

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS

Année 1907-1908.

N° 11

MÉTHODES DE DOSAGE
DE QUELQUES COMPOSÉS AZOTÉS
AMMONIAQUE, URÉE, ACIDE URIQUE

THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie),

Présentée et soutenue, le juillet 1908.

PAR

A.-D. RONCHÈSE

Pharmacien de 1^{re} classe.

Licencié ès sciences.

Préparateur à l'Ecole supérieure de Pharmacie.

Ancien interne lauréat des hôpitaux de Paris (*Médaille d'argent* 1907).

Lauréat de l'Ecole supérieure de Pharmacie (*Prix Laroze* 1907)

JURY : { MM. GRIMBERT, *Président*,
LEBEAU, *Professeur*
DELÉPINE, *Agrégé*.



PARIS

IMPRIMERIE GÉNÉRALE LAHURE

9, RUE DE FLEURUS, 9

1908

Thèse Paris
1908.

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS

Année 1907-1908.

N° 11

MÉTHODES DE DOSAGE
DE QUELQUES COMPOSÉS AZOTÉS
AMMONIAQUE, URÉE, ACIDE URIQUE

THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie),

Présentée et soutenue, le juillet 1908.

PAR

A.-D. RONCHÈSE

Pharmacien de 1^{re} classe.

Licencié ès sciences.

Préparateur à l'Ecole supérieure de Pharmacie.

Ancien interne lauréat des hôpitaux de Paris (*Médaille d'argent* 1907).

Lauréat de l'Ecole supérieure de Pharmacie (*Prix Laroze* 1907)

JURY : { MM. GRIMBERT, *Président*,
LEBEAU, *Professeur*
DELEPINE, *Agrégé*.

PARIS

IMPRIMERIE GÉNÉRALE LAHURE

9, RUE DE FLEURUS, 9

1908

PERSONNEL DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. GUIGNARD, Directeur, Membre de l'Institut, O. ✱, ☿ I
BOUCHARDAT, Assesseur, ✱, ☿ I.
F. MUSSON, Secrétaire, ☿ I.

PROFESSEURS

MM. BOUCHARDAT, ✱, ☿ I.	Hydrologie et minéralogie.
GUIGNARD, Membre de l'Institut, O. ✱, ☿ I.	Botanique générale.
VILLIERS-MORIAMÉ, ☿ I.	Chimie analytique.
BOURQUELOT, ✱, ☿ I.	Pharmacie galénique.
GAUTIER, ✱, ☿ I.	Chimie minérale.
RADAIS, ☿ I.	Cryptogamie.
BÉHAL, ✱, ☿ I.	Chimie organique.
PERROT, ☿ I.	Matière médicale.
COUTIÈRE, ☿ I.	Zoologie.
BERTHELOT, ☿ I.	Physique.
GRIMBERT, ☿ I.	Chimie biologique.
MOUREU, ✱, ☿ I.	Pharmacie chimique.
LEBEAU, ☿ I.	Toxicologie.

Professeurs honoraires { MM. MARCHAND, ☿ I.
JUNGFLEISCH, ✱, ☿ I.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. GUERBET, ☿ I	MM. GUÉRIN, ☿ I.
DELÉPINE, ☿ I.	GUEGDEN, ☿ I.
TASSILY, ☿ I.	LUTZ, ☿ I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, ☿ I	Chimie générale.
COUSIN, ☿ A.	Chimie analytique.
PELTRISOT, ☿ A.	Micrographie.
MOURLLOT, ☿ A.	Physique.
BARTHELAT, ☿ I.	Microbiologie.

Chef du Laboratoire des examens pratiques : M. VALEUR, ☿ A.
Bibliothécaire : M. DORVEAUX, ☿ I.

A MON PÈRE

A MA MÈRE

A MON MAITRE

M. LE PROFESSEUR L. GRIMBERT

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

PHARMACIEN EN CHEF DES HOPITAUX DE PARIS

DIRECTEUR DE LA PHARMACIE CENTRALE DES HOPITAUX

Homage de respectueux et sincère attachement.

A

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ F. WIDAL

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

MEMBRE DU CONSEIL SUPÉRIEUR D'HYGIÈNE DE FRANCE

MÉDECIN DE L'HOPITAL COCHIN

Hommage de respect et de profonde reconnaissance.

MEIS ET AMICIS

AVANT-PROPOS

Avant d'exposer les résultats des recherches entreprises en vue de cette thèse, je tiens à exprimer toute ma gratitude à ceux qui, de près ou de loin, m'en ont facilité l'accomplissement.

Depuis mon arrivée dans les hôpitaux, M. le professeur GRIMBERT n'a cessé de me donner des témoignages de son bienveillant intérêt. C'est sous sa direction que j'ai acquis la pratique du laboratoire et les conseils que ce maître m'a prodigués ont singulièrement facilité ma tâche. Ma dette de reconnaissance envers lui est très grande, je le prie de croire à mon respectueux attachement.

J'adresse également l'expression de ma profonde gratitude à M. le professeur agrégé WIDAL, médecin de l'hôpital Cochin. Je ne puis oublier les nombreuses preuves de sympathie dont j'ai été l'objet de sa part durant les quatre années passées dans son service.

M. le professeur H. GAUTIER a bien voulu m'admettre au nombre des préparateurs des travaux pratiques de chimie; M. le professeur VILLIERS s'est, à plusieurs reprises, intéressé à ce travail; je les prie de croire à toute ma reconnaissance.

J'ai toujours trouvé l'accueil le plus bienveillant auprès de M. COUSIN, pharmacien en chef de l'hôpital Cochin, et de M. le professeur QUÉNU, chirurgien de l'hôpital Cochin, qui fut mon chef de service pendant ma première année d'internat. Qu'ils soient assurés de ma gratitude.

Je suis heureux de l'occasion qui m'est offerte d'adresser mes sin-

cères remerciements à M. RICHARD, chimiste à Nice, pour le grand intérêt qu'il m'a témoigné dès le début de ma carrière pharmaceutique et pour ses précieux conseils qui me furent toujours si profitables.

Enfin, je remercie vivement mon excellent ami BERNIER, interne des hôpitaux, de l'aide complaisante qu'il m'a souvent accordée au cours de ce travail.

MÉTHODES DE DOSAGE

DE QUELQUES COMPOSÉS AZOTÉS

AMMONIAQUE, URÉE, ACIDE URIQUE

INTRODUCTION

Le dosage de l'ammoniaque occupe une place importante en chimie analytique.

Cette importance est justifiée par le nombre de substances azotées que l'on peut doser après les avoir transformées préalablement en ammoniaque, soit par la méthode à la chaux sodée de WILL et WARRENTRAPP, soit par la méthode de KJELDAHL, soit enfin par simple hydrolyse.

Le dosage de l'ammoniaque ainsi formée, et en général le dosage des sels ammoniacaux, s'effectue le plus souvent par distillation en présence des alcalis fixes. On termine le dosage, soit par la méthode précise de VILLIERS et DUMESNIL, soit par acidimétrie.

Mais il est des cas où l'on est obligé de doser l'ammoniaque en présence d'autres substances azotées facilement attaquables par les alcalis. Ici le problème est plus délicat et le nombre de procédés indiqués témoigne de cette difficulté.

C'est dans cet esprit que j'ai entrepris l'étude d'un procédé de dosage de l'ammoniaque et je me suis arrêté à une technique basée sur l'action du formol sur les sels ammoniacaux. Ce procédé est d'une application générale et, dans la plupart des cas, d'une simplicité d'exécution qui le rendent préférable au procédé classique par distillation.

Il est applicable à la détermination de l'ammoniaque urinaire.

En même temps que le dosage de l'ammoniaque urinaire, je m'étais proposé d'étudier le dosage de l'urée et de l'acide urique.

Pour l'urée, tous les procédés de dosage précis sont basés sur l'hydrolyse de ce corps et le dosage de l'ammoniaque qui en résulte.

En particulier dans la méthode de FOLIN, la substance hydrolysante est le chlorure de magnésium cristallisé maintenu à la température de fusion; l'ammoniaque est ensuite distillée et dosée acidimétriquement. Cette méthode, qui donne d'excellents résultats, est considérée comme la plus rapide; mais, à vrai dire, elle exige encore de longues manipulations qui en restreignent l'emploi.

Pour cette raison, on emploie plus fréquemment les méthodes gazométriques basées sur l'action de l'hypobromite de soude sur les composés azotés de l'urine autres que l'urée.

J'ai cherché si, dans certaines conditions, on ne pourrait obtenir par gazométrie un dosage exact de l'urée. Dans ce but, j'ai étudié l'importance des erreurs dues aux principaux composés azotés, notamment l'ammoniaque urinaire.

En ce qui concerne le dosage de l'acide urique, un seul procédé est reconnu par tous les auteurs comme très exact et, pour ainsi dire, exempt de critiques. C'est le procédé classique dû à SALKOWSKY et LUDWIG.

Les manipulations qu'il exige sont pourtant si longues que, de tous les côtés, on a cherché à lui substituer des procédés plus rapides.

Quelques-uns d'entre eux sont notoirement inexacts. D'autres, quoique plus rapides que celui de SALKOWSKY et LUDWIG, rendent encore pénible pour des causes secondaires (lenteur de filtration ou difficulté des lavages) le dosage de l'acide urique.

D'autres enfin, suffisamment pratiques et exacts, dosent en même temps que l'acide urique les composés xantho-uriques qui accompagnent ce corps dans les liquides de l'organisme.

Je me suis attaché à chercher un procédé de dosage qui donnât des résultats comparables à ceux fournis par la méthode de SALKOWSKY-LUDWIG avec une assez grande rapidité.

Les divers résultats obtenus au cours de cette étude seront examinés dans l'ordre suivant :

- 1^o Dosage de l'ammoniaque ;
- 2^o Dosage de l'urée ;
- 3^o Dosage de l'acide urique.

PREMIÈRE PARTIE

DOSAGE DE L'AMMONIAQUE

Pour remplir le but que je m'étais proposé, je devais chercher un procédé de dosage de l'ammoniaque dont les résultats ne seraient pas influencés par la présence d'autres substances azotées. Parmi ces dernières, l'urée étant celle qui donne le plus facilement de l'ammoniaque sous les influences les plus légères, le problème se réduisait à la forme suivante : dosage de l'ammoniaque en présence d'urée.

Je me suis rapidement convaincu qu'il ne me serait pas possible de libérer l'ammoniaque à la température de l'ébullition, même en employant les alcalis les plus faibles ou les plus insolubles. Entre autres, le carbonate de baryum et celui de cadmium qui libèrent la totalité de l'ammoniaque hydrolysent l'urée. Un mélange de borax et d'acide borique, en proportions telles que la solution soit acide au tournesol, n'hydrolyse pas l'urée à l'ébullition et, chauffé avec une solution de sel ammoniacal, dégage de l'ammoniaque, mais jamais la totalité de cette base.

J'ai donc renoncé à l'emploi de la chaleur et ai cherché à effectuer le dosage à froid.

J'ai pensé alors à me servir du formol pour remplir un des buts suivants : étant donné un sel ammoniacal en solution neutre, additionné d'un excès de soude titrée, rendre sans action sur un indicateur l'ammoniaque libérée, ou bien agir directement sur un sel ammoniacal dans certaines conditions.

C'était, en somme, l'étude de l'action du formol sur les sels ammoniacaux, qui avait déjà fait l'objet de plusieurs recherches.

M. DELÉPINE ⁽¹⁾ a le premier signalé qu'en combinant six molécules d'aldéhyde formique et quatre de chlorhydrate d'ammoniaque il y avait formation d'hexaméthylène amine avec mise en liberté d'acide, mais, dans les conditions de l'expérience, la réaction était limitée par la réaction inverse.

Plus tard, MM. CAMBIER et BROCHET ⁽²⁾ opérant en présence d'un excès de formol constatèrent qu'il y avait, dans ces conditions, mise en liberté de tout l'acide du sel ammoniacal.

La différence de résultats signalée ci-dessus est facilement explicable grâce à l'étude de M. DELÉPINE ⁽³⁾ sur la vitesse de combinaison du formol et de l'ammoniaque. Cet auteur a vu, en effet, que cette combinaison est d'autant plus rapide qu'on ajoute plus de formol pour une même quantité d'ammoniaque. Au cours de mes expériences, j'ai constaté qu'il ne suffit pas, pour que tout l'acide soit libéré, qu'il y ait simple excès de formol. Il faut, pour une quantité donnée de sel ammoniacal, une quantité minima de formol, quantité très grande par rapport à celle d'ammoniaque. On est donc en droit de penser que par l'addition de grandes quantités de formol on diminue, jusqu'à la rendre nulle, l'importance de la réaction inverse signalée par M. DELÉPINE. D'ailleurs, la mise en liberté de l'acide ne fût-elle pas totale instantanément, les additions de soude faites à chaque instant mettraient en liberté une nouvelle quantité d'acide jusqu'à réaction complète.

Dans un travail sur l'action de la formaldéhyde sur les amino-acides, VON HUGO SCHIFF ⁽⁴⁾ s'occupe incidemment de la question et confirme la constatation de MM. CAMBIER et BROCHET. Il émet l'opinion qu'une telle réaction peut servir au dosage des sels ammoniacaux, mais il ne considère que le cas d'un sel neutre dissous dans l'eau et n'indique aucune technique générale ou spéciale.

J'ai entrepris des expériences en vue d'appliquer la réaction de DELÉPINE et de CAMBIER et BROCHET aux divers dosages de l'ammoniaque.

⁽¹⁾ DELÉPINE. *Bull. Soc. chim.*, **43**, p. 165, 1895. — Amines et amides dérivés des aldéhydes [*Thèse doctorat ès sciences*, Paris, 1898, Gauthiers-Villars, p. 95].

⁽²⁾ CAMBIER ET BROCHET. Action de l'aldéhyde formique sur les amines et sur leurs sels [*Bull. Soc. chim.*, **43**, p. 592 à 418, p. 406, 1895].

⁽³⁾ DELÉPINE. *Loc. cit.*, p. 71.

⁽⁴⁾ VON HUGO SCHIFF. Trennung von Amin- und Säurefunction in Lösungen von Aminsäuren mittelst Formaldehyd [*Ann. d. Chemie*, **319**, p. 59 et 75; **325**, p. 348 et 351].

CHAPITRE I

§ I. — *Essais de dosage par le formol.*

Il fallait en premier lieu préparer une solution titrée d'un sel ammoniacal et voir ensuite quels résultats on obtiendrait en se servant du formol.

J'ai fait une solution de sulfate d'ammoniaque qui fut ensuite titrée par deux méthodes : celle précise de VILLIERS et DUMESNIL et la méthode volumétrique de MOHR.

La méthode de VILLIERS et DUMESNIL⁽¹⁾ consiste à distiller la solution ammoniacale en présence de soude, à recevoir l'ammoniaque formée dans de l'acide chlorhydrique dilué, et à laisser la solution de chlorhydrate d'ammoniaque pendant 20 heures dans une étuve à 105°. Le chlorhydrate d'ammoniaque est ensuite pesé.

10 cc. de la solution de sulfate d'ammoniaque ont ainsi fourni 0^{gr},0806 de chlorhydrate d'ammoniaque, soit une teneur de 2^{gr},5611 d'ammoniaque par litre.

En employant la méthode volumétrique de MOHR : addition d'un excès connu de soude titrée, ébullition pour chasser l'ammoniaque et dosage de la soude en excès, j'ai constaté que 10 cc. de la solution avaient transformé en sulfate 15 cc. de soude décimormale, ce qui indique une teneur par litre de 2^{gr},55 d'ammoniaque.

Le titre de la solution étant ainsi déterminé, j'ai effectué des prises d'essai différentes qui furent additionnées d'un grand excès de formol. Il a fallu, pour arriver à neutralité en présence de

⁽¹⁾ VILLIERS ET DUMESNIL. Sur le dosage de l'ammoniaque et de l'azote [*C. R. Ac. sc.*, **130**, p. 573].

phtalcine du phénol, verser les quantités de soude décinormale consignées dans le tableau suivant :

Nombre de cc. de la prise d'essai.	Quantité d'ammoniaque contenue dans la prise d'essai.	Nombre de cc. de soude versés.	Ammoniaque trouvée.	Résultats rapportés au litre.
2 cc.	0,00512	3 ^{cc}	0,00510	2,550
2 cc.	0,00512	3 ^{cc}	0,00510	2,550
5 cc.	0,01280	7 ^{cc} ,5	0,01275	2,550
7 cc.	0,01792	10 ^{cc} ,45	0,01776	2,537
10 cc.	0,02561	15 ^{cc}	0,02550	2,550
10 cc.	0,02561	15 ^{cc}	0,02550	2,550

J'ai également pratiqué des dosages sur des solutions titrées de chlorhydrate et de phosphate d'ammoniaque et j'ai obtenu les mêmes résultats satisfaisants.

On voit, d'après cela, que l'on peut, à l'aide du formol, doser presque instantanément l'ammoniaque d'un sel ammoniacal avec toute la précision qu'on peut attendre d'un dosage volumétrique.

§ II. — *Technique du dosage.*

Détermination de la quantité de formol à employer. — Un simple excès de formol sur la quantité théorique n'étant pas suffisant pour amener une réaction intégrale, il fallait déterminer la quantité minima à employer.

Des prises d'essai de 5 cc. de la solution de sulfate d'ammoniaque titrée furent additionnées de quantités croissantes d'une solution de formol du commerce au demi préalablement neutralisée ⁽¹⁾. Les 5 cc. de solution de sulfate d'ammoniaque contenaient 0^{gr},0128 d'ammoniaque, soit environ 7^{cc},5 de solution décinormale de cet alcali.

⁽¹⁾ Il est préférable de couper d'eau la solution alcoolique d'aldéhyde formique, car on peut saisir ainsi plus facilement le moment de la neutralisation. La solution qui a servi pour cet essai titrait après dilution 19^{gr},95 0/0 d'aldéhyde formique.

Il a fallu verser les quantités suivantes de soude pour arriver à neutralité.

Nombre de cc. de formol à 19,95 0/0.	Nombre de cc. de soude N/10 versés.	Chiffre théorique.
2 cc.	4 ^{cc} ,8	7 ^{cc} ,5
4 cc.	7 ^{cc} ,0	7 ^{cc} ,5
6 cc.	7 ^{cc} ,5	7 ^{cc} ,5

En doublant la quantité de sel ammoniacal, et en ajoutant des quantités croissantes de formol, on obtient les résultats suivants :

Nombre de cc. de formol à 19,95 0/0.	Nombre de cc. de soude N/10 versés,	Chiffre théorique.
2 cc.	10 ^{cc} ,8	15 cc.
4 cc.	13 ^{cc} ,9	15 cc.
6 cc.	14 ^{cc} ,8	15 cc.
10 cc.	15 ^{cc} ,0	15 cc.

On voit qu'en opérant sur des prises d'essai ne contenant pas plus de 0^{gr},02 d'ammoniaque, on est assuré d'avoir une réaction intégrale avec 20 cc. de solution de formol au demi. Pour des quantités supérieures d'ammoniaque on pourra employer 30 cc., 40 cc., ou 50 cc. de solution de formol en s'assurant, par additions de formol faites après le virage terminal, que la réaction a été complète. La coloration rose ne doit pas disparaître; dans le cas contraire, on continuerait les additions de soude titrée jusqu'à coloration rose persistante.

Choix de l'indicateur. — Pour qu'un indicateur puisse servir au dosage de l'ammoniaque à l'aide du formol, il doit remplir deux conditions : être influencé par les acides les plus faibles, et, d'autre part, ne pas être influencé en sens inverse par l'hexaméthylène amine formée. ESCHVEILLER ⁽¹⁾ a signalé que l'hexaméthylène amine

⁽¹⁾ ESCHVEILLER. Zur Bestimmung des Formaldehydes durch Titrieren mit Ammoniak [*D. chem. Ges.*, **22**, p. 1929].

est alcaline vis-à-vis du méthylorange et de la cochenille; je me suis assuré qu'il en était de même pour la rézaurine, l'acide rosolique et la fluorescéine. Aucun de ces indicateurs ne peut donc être employé.

Restaient donc le tournesol, le tournesol d'orcine et la phtaléine du phénol. Avec les deux premiers et en présence des produits de la réaction, le virage n'est pas net; il est au contraire très net en présence de la phthaléine du phénol, car au moment de la détermination de l'acide mis en liberté, il n'existe plus de sel ammoniacal.

L'emploi de la phénol-phthaléine présente un autre avantage : Cet indicateur étant influencé par les acides les plus faibles, le dosage des sels ammoniacaux peut se faire dans les milieux contenant les sels les plus variés. Un acide fort, mis en liberté dans un tel milieu, peut déplacer des acides faibles, mais le résultat acidimétrique reste le même. Avec un autre indicateur, l'hélianthine par exemple, les résultats pourraient être plus faibles ou même nuls, suivant la nature du milieu.

Technique proprement dite. — On peut considérer deux cas :

Celui où le sel ammoniacal à doser est en solution neutre, et celui où il se trouve en solution acide.

La solution étant neutre, la prise d'essai est étendue à 100 cc. environ par de l'eau distillée, privée de gaz carbonique, additionnée de quelques gouttes de phénol phthaléine et d'un grand excès d'une solution neutre de formol au demi. On verse alors, à l'aide d'une burette de Mohr, une solution décimale de soude jusqu'à coloration légèrement rose du liquide.

Chaque centimètre cube de soude N/10 versé correspond à 0^{gr},0017 d'ammoniaque dans la prise d'essai.

Lorsqu'on a, au contraire, à doser un sel ammoniacal en solution acide, il se présente une difficulté : avant d'effectuer l'addition de formol il est nécessaire de neutraliser la solution, mais on sait que les sels ammoniacaux agissent sur le phénol-phthaléine en retardant l'apparition de la teinte rose. On est donc amené à ajouter quelques gouttes supplémentaires de soude, ce qui donne une légère erreur par défaut.

Je me suis assuré que la quantité d'alcali qu'il faut verser en trop est sensiblement proportionnelle à la quantité d'ammoniaque. Elle est d'environ 0^{cc},1 pour 3 cc. de soude titrée versée entre les deux

neutralisations ⁽¹⁾. Une fois le dosage terminé, il suffit d'ajouter cette quantité au chiffre de lecture.

Voici un exemple : on a neutralisé une solution de chlorhydrate d'ammoniaque avec x cc. de soude décijnormale. On a ensuite versé 20 cc. de formol au demi, la solution s'est décolorée et pour arriver à une nouvelle teinte rose il a fallu ajouter 6 cc. de soude décijnormale.

La solution contient donc une quantité d'ammoniaque correspondant à $6 \text{ cc.} + 0^{\text{cc}},2 = 6^{\text{cc}},2$ d'alcali décijnormal, soit

$$0^{\text{gr}},0017 \times 6,2 = 0^{\text{gr}},0105 \text{ d'AzH}^3.$$

Dans le cas où l'acidité est due à un acide fort, on peut éviter toute correction et obtenir un dosage rigoureux en divisant la prise d'essai en deux parties égales. Sur l'une, on pratique le dosage décrit plus haut en présence de phénol-phtaléine et sans neutralisation préalable; sur l'autre on détermine l'acidité en présence d'un indicateur non influencé par les sels ammoniacaux. Le tournesol d'orcine, la rézaurine, l'acide rosolique et la fluorescéine sont parmi les plus sensibles. On retranche ensuite du chiffre total la part qui revient à l'acidité préexistante.

Lorsque l'on a à doser du carbonate d'ammoniaque ou un sel à acide insoluble, il faut déplacer l'acide par de l'acide sulfurique dilué, éliminer l'acide primitivement combiné à l'ammoniaque, par ébullition dans le premier cas, par filtration dans le second.

Enfin, si le dosage d'ammoniaque s'effectue en présence de sels de métaux à hydrate insoluble (alumine par exemple), les virages ne sont atteints qu'après précipitation de ces hydrates. On n'a pas à tenir compte de cette précipitation qui n'influe pas sur les résultats.

Ce cas se présente fréquemment dans le dosage de l'azote ammoniacal dans les engrais.

(1) Que la solution titrée soit normale, décijnormale ou centijnormale.

CHAPITRE II

DOSAGE DE L'AMMONIAQUE DANS LA MÉTHODE DE KJELDAHL

La méthode de KJELDAHL est souvent employée pour le dosage de substances organiques azotées. Elle a pour principe la transformation de l'azote en sulfate d'ammoniaque sous l'influence de l'acide sulfurique à l'ébullition en présence d'adjuvants oxydants ou réducteurs. Divers adjuvants ont été successivement proposés, mais on emploie le plus souvent : l'oxalate neutre de potasse préconisé par DENIGÈS ⁽¹⁾ et le mercure.

Pour doser l'ammoniaque, on distille en présence de soude ou de potasse, en terminant le dosage par l'une des méthodes habituelles.

On peut opérer ce dosage d'ammoniaque par le formol, ce qui évite la distillation. Le seul inconvénient est la quantité assez grande d'acide sulfurique qu'il faut neutraliser avant d'ajouter la solution formolée. Pour l'éviter on rend la neutralisation plus facile en augmentant, lorsque la chose est possible, la quantité de liquide ou de substance à doser pour une même quantité d'acide sulfurique. On dilue ensuite le produit de l'attaque sulfurique, et on prend une portion aliquote.

Ainsi pour le dosage de l'azote total urinaire, on obtiendra de bons résultats en pratiquant le dosage de la façon suivante :

20 cc. d'urine sont additionnés, dans un ballon de 400 à 500 cc., de 5 cc. d'acide sulfurique et de 5 cc. d'une solution d'oxalate neutre de potasse. On effectue la transformation en sulfate d'ammoniaque ⁽²⁾ puis on additionne d'eau le résidu en amenant le volume à 100 cc. après refroidissement. On prend 5 cc. de la solution, ce qui représente 1 cc. d'urine.

⁽¹⁾ G. DENIGÈS. *Chimie analytique*, 2^e édit., 1903, p. 639, Storeck, Lyon.

⁽²⁾ DENIGÈS. *Loc. cit.*, p. 641.

La prise d'essai est étendue d'eau distillée (bouillie de préférence) et additionnée de quelques gouttes de solution de phénol-phtaléine.

On neutralise presque entièrement la solution par de la lessive de soude au 1/4. (Un moyen commode consiste à atteindre le virage au rouge en ramenant immédiatement l'acidité par une ou deux gouttes d'acide acétique au 1/20.)

On achève ensuite la neutralisation par de la soude décimale. On ajoute 20 cc. de solution neutralisée de formol au demi et on verse alors de la soude décimale jusqu'à teinte rose persistante. Le nombre de centimètres cubes de soude titrée versés après addition de formol est augmenté de 0^{cc},1 par 3 cc. (Correction).

Soit x le chiffre obtenu

$$x \times 1^{er},4 = \text{azote total par litre d'urine.}$$

Si on a pratiqué la transformation des substances azotées de l'urine en présence de mercure, il est nécessaire de libérer l'ammoniaque des combinaisons ammoniées de mercure qui se sont formées. L'hypophosphite de soude préconisé par MM. MAQUENNE et ROUX⁽¹⁾ donne pour le dosage au formol les meilleurs résultats.

On opérera de la façon suivante :

Dans le ballon où s'est effectuée la destruction des substances organiques, on verse 30 cc. environ d'eau distillée, puis 1 gr. d'hypophosphite de soude. Après quelques minutes, on introduit le tout dans un ballon jaugé de 100 cc., on filtre et on prend 5 cc. de la solution. Le dosage sera ensuite effectué comme il est dit plus haut.

Le dosage indiqué pour l'urine s'effectuera de la même façon pour les divers produits justiciables d'un dosage d'azote par la méthode de KJELDAHL. On opérera sur des prises d'essai d'importance variable suivant le cas.

Ainsi, pour un engrais à base de poudre de viande ou de sang desséché, on opérera sur 2 gr. de matière avec 10 cc. d'acide sulfurique. On ramènera à 100 cc. et on prendra, pour le dosage au formol, 10 cc. de la solution.

(¹) MAQUENNE et ROUX. Observations sur le dosage de l'azote par le procédé de KJELDAHL [*Bull. Soc. Chim.*, (3), **21**, p. 312, 1899].

CHAPITRE III

DOSAGE DE L'AMMONIAQUE DES EAUX

Le dosage de l'ammoniaque des eaux fournit d'utiles indications sur leur pureté. Dans les cas de pollution il peut, dans une certaine mesure, renseigner sur l'importance de la contamination.

Il m'a donc paru intéressant de chercher si le procédé de dosage par le formol serait assez sensible pour être appliqué aux eaux.

On sait que la quantité maxima d'ammoniaque saline admise dans les eaux potables par le congrès international d'hygiène est de 0^{mg},5 par litre. Cette quantité se trouve naturellement dépassée dans les eaux polluées par une cause quelconque, de même que dans les eaux de pluie. Mais, quelle que soit son origine, la quantité d'ammoniaque d'une eau naturelle ne dépasse jamais 5 milligr. par litre.

Il était certain, *a priori*, que pour sensible que fût la réaction à utiliser, elle aurait pour limite la sensibilité d'une dosage acidimétrique dans les meilleures conditions d'action. Dans mes essais, j'ai donc opéré des dosages d'ammoniaque sur des solutions de chlorhydrate d'ammoniaque contenant de 0^{mg},05 à 5 milligr. pour 50 cc. d'eau, solutions acidulées par quelques gouttes d'acide sulfurique dilué. Je supposais ainsi contenue dans 50 cc. l'ammoniaque d'un litre d'eau.

Les 50 cc. de solution étaient mis dans un verre à pied sur fond blanc et additionnés de quelques gouttes de phénolphthaléine. Après neutralisation j'ajoutais 4 cc. de solution de formol du commerce au demi neutralisée. A l'aide d'une burette de Mohr, je versais ensuite une solution centinormale de soude jusqu'à coloration rose faible, persistante, du liquide. Pour tenir compte de l'action des sels ammoniacaux sur la phtaléine lors de la première neutralisation, j'ajoutais au nombre de centimètres cubes de soude versés après addition de formol 0^{cc},1 par 3 cc.

Au cours des opérations, j'ai pu me convaincre qu'un dosage ainsi conduit donnait toute satisfaction quant à la netteté des colorations et décolorations, surtout si l'on a soin de verser la soude centinormale par deux gouttes vers la fin des neutralisations⁽¹⁾. Il est évident que dans les virages la teinte rose franc obtenue avec des solutions plus concentrées est remplacée par une teinte rose pâle, mais très visible. La correction signalée plus haut rend négligeable l'erreur due à l'action des sels ammoniacaux sur la phthaléine.

Voici d'ailleurs quelques-uns des résultats obtenus :

Ammoniaque en milligr. contenue dans les 50 cc. de liquide.	Nombre de cc. de NaOH N/100 versés.	Correction.	Chiffre obtenu après correction.	Résultat en milligr.	Écart en milligr.
0,07	0,45	cc.	cc.		
0,141	0,9	"	0,45	0,076	+ 0,006
0,222	1,5	"	0,9	0,155	+ 0,012
0,444	2,5	0,05	1,55	0,229	+ 0,007
1,112	6,55	0,1	2,6	0,442	+ 0,002
2,664	14,9	0,2	6,55	1,115	+ 0,001
6,216	35,25	0,5	15,4	2,618	— 0,046
		1,2	56,45	6,196	— 0,02

On voit d'après ces résultats, qu'en opérant sur un litre d'eau préalablement ramené à 50 cc. par concentration, on peut doser en quelques instants des quantités d'ammoniaque même inférieures à un dixième de milligramme avec une approximation le plus souvent inférieure à deux centièmes de milligramme.

Pour m'assurer que les éléments des eaux, autres que l'ammoniaque, ne troublaient pas le dosage, j'ai opéré l'essai suivant.

10 litres d'eau de source dont le degré hydrotimétrique total était 28 furent additionnés de 1 cc. d'acide sulfurique au quart et évaporés à 400 cc. environ. Le produit de l'évaporation et les eaux de lavage de la capsule furent versés dans un ballon jaugé de 500 cc. et le volume complété avec de l'eau distillée bouillie. Chaque prise d'essai de 50 cc. de cette solution correspondait à 1 litre d'eau.

Sur 4 prises d'essai de 50 cc. chacune, j'ai effectué des dosages à

(1) L'erreur que l'on peut commettre ainsi est au plus d'une goutte, soit 0^{mg},008.

l'aide de la technique plus haut décrite et il m'a fallu verser, après addition de formol, les quantités suivantes de soude N/100

$$1^{\text{cc}},4; \quad 1^{\text{cc}},4; \quad 1^{\text{cc}},45; \quad 1^{\text{cc}},4;$$

soit $1^{\text{cc}},4$ et, après correction, $1^{\text{cc}},45$ ce qui indique une teneur en ammoniacque de $0^{\text{gr}},00014 \times 1,45 = 0^{\text{mg}},24$ par litre d'eau.

Sur deux prises d'essai de 100 cc. (correspondant chacune à 2 lit. d'eau) j'ai dosé l'ammoniacque par distillation en présence de magnésie. L'ammoniacque était reçue, dans 10 cc. d'acide sulfurique N/100 dont l'excès était dosé en présence d'acide rosolique. Dans les deux cas, la quantité d'acide neutralisé par l'ammoniacque fut de $2^{\text{cc}},9$, ce qui indiquait une teneur en ammoniacque de

$$\frac{0,00017 \times 2,9}{2} = 0^{\text{mg}},24 \text{ par litre d'eau.}$$

En examinant les résultats consignés dans le tableau ci-dessus, on voit, par les volumes versés de soude titrée, qu'il n'est pas toujours nécessaire d'opérer sur une prise d'essai de un litre d'eau.

Pour les eaux de pluie, 250 cc. d'eau seront suffisants. Pour les eaux d'une teneur élevée en ammoniacque (un simple essai qualitatif avec le réactif de NESSLER l'indiquera), on pourra évaporer soit 500 cc., soit 250 cc., soit même opérer directement sur 50 cc. d'eau.

Comme indication générale on pourra adopter les chiffres suivants :

Opérer sur 1 litre pour une eau d'une teneur inférieure à $0^{\text{mg}},5$;

Opérer sur 500 cc. pour une eau d'une teneur comprise entre $0^{\text{mg}},5$ et $1^{\text{mg}},5$;

Opérer sur 250 cc. pour une eau d'une teneur au-dessus de $1^{\text{mg}},5$;

Opérer directement sur l'eau, au-dessus de 5 milligrammes.

Ces divers points étant établis, je conseille la technique suivante :

D'après la teneur présumée de l'eau en ammoniacque, mettre dans une capsule 1 litre, 500 cc., ou 250 cc. d'eau. Additionner cette eau de quelques gouttes d'acide sulfurique dilué jusqu'à réaction acide et évaporer au bain-marie jusqu'à environ 40 cc.

Laisser refroidir et verser le produit de l'évaporation dans un verre à pied, laver la capsule avec 10 à 20 cc. d'eau distillée et joindre le liquide obtenu au premier; additionner le tout de quelques gouttes de phénolphthaléine. Neutraliser presque entièrement en versant par

petites portions de la soude à 4 pour 100 et achever la neutralisation avec de la soude N/100 en s'arrêtant à la teinte rose faible persistante; ajouter 4 cc. de solution neutre de formol au demi. Verser ensuite à l'aide d'une burette de Mohr de la soude N/100 jusqu'à coloration rose faible du liquide. Au nombre de centimètres cubes de soude versés après addition du formol, ajouter 0^{cc},1 par 3 cc. (correction).

Soit x le chiffre obtenu; $x \times 0^{\text{gr}},00017 = \text{AzH}^3$ saline contenue dans la prise d'essai.

Bien qu'on considère généralement comme inexact le dosage volumétrique de très faibles quantités d'ammoniaque, ce procédé présente, à mon avis, l'exactitude des méthodes les plus sensibles de dosage de l'ammoniaque des eaux : la méthode par distillation après concentration de un ou plusieurs litres d'eau et la méthode pondérale de BUISSON ⁽¹⁾.

Déjà cet auteur a montré ⁽²⁾ qu'en prenant certaines précautions, on pouvait doser très exactement par distillation et volumétrie un milligramme d'ammoniaque. Les chiffres donnés plus haut montrent que par la méthode au formol on obtient de bons résultats avec des quantités encore plus faibles. Ceci peut s'expliquer par la diminution des manipulations et l'emploi de la phénol-phtaléine, indicateur très sensible. Cet indicateur était avec raison écarté dans les dosages acidimétriques de l'ammoniaque. La correction dont je me suis servi pourra, je pense, en permettre l'emploi.

⁽¹⁾ A. BUISSON. Contribution à l'unification des méthodes analytiques pour le dosage de l'ammoniaque dans les eaux [*Thèse Doct. Univ.*, Paris, 1907, Lahure].

⁽²⁾ A. BUISSON, *loc. cit.*, p. 19.

CHAPITRE IV

DOSAGE DE L'AMMONIAQUE DANS LE LAIT

Dans une étude sur la signification de la présence de l'ammoniaque dans le lait, MM. TRILLAT et SAUTON⁽¹⁾ ont montré l'importance qui se rattache au dosage de l'ammoniaque dans le lait.

Ces auteurs ont d'abord constaté sur un grand nombre de cas que les laits provenant de vaches saines et traites avec soin ne contenaient pas d'ammoniaque. Au contraire, la plupart des laits prélevés à Paris ont fourni à ces auteurs une réaction positive par le procédé de recherche de l'ammoniaque de MM. TRILLAT et TURCHET⁽²⁾, procédé basé sur la formation d'iodure d'azote.

Recherchant dans quelles conditions pouvait avoir lieu la formation d'ammoniaque, MM. TRILLAT et SAUTONensemencèrent des laits purs avec divers germes. Ils constatèrent ainsi la formation d'ammoniaque dans les laitsensemencés par le *micrococcus ureæ*, par divers tyrothrix, les bacilles de PELÜGGE, la salive humaine, l'urine putréfiée et l'eau d'égout.

Comme conséquence de ces observations, ils virent que des laits, mouillés par de l'eau de Seine ou une trace d'eau d'égout, contenaient de l'ammoniaque après 12 ou 15 heures.

Les auteurs concluent de leur travail que, si l'absence d'ammoniaque n'est pas une preuve de non-contamination du lait, sa présence, surtout si elle est abondante, doit être considérée comme une présomption de pollution et de mouillage.

Il arrive également que, pour éviter la coagulation du lait, les

(1) TRILLAT ET SAUTON. Recherche de l'ammoniaque dans le lait. Application pour la caractérisation de sa pureté [*Bull. Soc. Chim.*, (3), 23, p. 719, 1905].

(2) TRILLAT ET TURCHET. Nouveau procédé de recherche de l'ammoniaque [*Bull. Soc. Chim.*, (3), 23, p. 304, 1905].

marchands l'additionnement de carbonate d'ammoniaque. Ce dernier a pour but de neutraliser l'acide lactique formé par fermentation. M. DENIGÈS ⁽¹⁾, qui signale le cas, a analysé deux laits contenant l'un 1^{er},45 et l'autre 1^{er},87 de carbonate d'ammoniaque par litre.

On voit donc qu'il y a avantage, lorsqu'on a décelé dans un lait la présence d'ammoniaque, à pratiquer son dosage.

L'application de la méthode au formol permet de pratiquer exactement ce dosage avec des manipulations au moins aussi simples qu'un dosage colorimétrique. La technique est la suivante :

20 cc. de lait sont additionnés de 40 cc. environ d'eau distillée et de V gouttes d'acide acétique. On porte à l'ébullition en arrêtant de chauffer dès que celle-ci est obtenue. On laisse refroidir et on amène le tout à un volume de 100 cc. dans un ballon jaugé. On filtre et on prend 50 cc. du filtrat.

Les 50 cc. de filtrat sont additionnés de quelques gouttes de phénol-phtaléine et neutralisés. La neutralisation est effectuée presque entièrement par de la soude à 4 0/0 et achevée par de la soude centnormale. On s'arrête à teinte rose faible. On ajoute alors 4 cc. de solution de formol au demi préalablement neutralisée (la neutralisation devra être terminée par de la soude N/100). S'il n'y a pas d'ammoniaque dans le lait, le liquide reste coloré. Dans le cas contraire, on verse à l'aide d'une burette de Mohr de la soude N/100 jusqu'à coloration rose faible. Au nombre de centimètres cubes de soude N/100 versés après addition de formol, on ajoute 0^{re},1 pour 5 cc. (correction).

Soit x le chiffre obtenu

$$x \times 0^{re},017 = \text{Az H}^3 \text{ par litre de lait.}$$

Je me suis assuré de l'exactitude de la méthode par addition de carbonate d'ammoniaque dans des laits où l'ammoniaque était préalablement dosée. Les quantités d'ammoniaque ainsi ajoutées ont toujours été retrouvées de façon satisfaisante.

Ainsi dans un lait non bouilli contenant par litre 0^{gr},052 d'ammoniaque, j'ai ajouté des quantités de carbonate d'ammoniaque correspondant à 0^{gr},067 et 0^{gr},098 d'ammoniaque par litre. Les quantités trouvées en plus de la teneur primitive ont été de 0^{gr},063 et 0^{gr},091.

(1) DENIGÈS. Falsification du lait par le bicarbonate d'ammoniaque [*Bull. Travaux Soc. Pharm. Bordeaux*, 1890, p. 345].

CHAPITRE V

DOSAGE DE L'AMMONIAQUE DANS LE SANG

Le dosage de l'ammoniaque dans le sang est quelquefois effectué en physiologie ou en pathologie. L'intérêt qui s'attache à cette question est dû en grande partie aux travaux de NENCKI et ses élèves, travaux qui ont beaucoup contribué à établir nos connaissances sur l'origine et le rôle de l'ammoniaque dans l'organisme.

Le procédé le plus employé est celui de NENCKI et ZALESKI⁽¹⁾ consistant à distiller le sang dans le vide à 58°-40° après l'avoir additionné d'un lait de chaux. Craignant qu'il y ait, même dans ces conditions, formation d'ammoniaque aux dépens des autres substances azotées du sang, ces auteurs ont substitué au lait de chaux la magnésie et ensuite la distillation sans addition d'alcali⁽²⁾. L'alcalinité du sang est suffisante pour permettre, dans les conditions de l'expérience, la mise en liberté de l'ammoniaque.

Un pareil dosage est loin d'être commode, car il se forme constamment une mousse très abondante qui rend la distillation pénible.

BECCARI⁽³⁾ a proposé récemment une modification de ce procédé qui permet d'éviter la formation de la mousse et d'obtenir un dégagement régulier d'ammoniaque. Par un dispositif spécial, le sang arrive goutte à goutte au fond du ballon maintenu à 58°-40°.

L'arrivée du sang est réglée de telle façon que chaque goutte est presque évaporée avant l'arrivée de la suivante.

(1) NENCKI ET ZALESKI. Sur le dosage de l'ammoniaque dans les liquides et les organes animaux [*Arch. de la Soc. biolog. St-Petersbourg*, 4, 1895, p. 253-262].

(2) NENCKI ET ZALESKI. Du dosage de l'ammoniaque dans les sucs et les organes animaux [*Arch. de la Soc. biolog. St-Petersbourg*, 9, 1901, p. 325, et *Zeitschr. für physiol.*, 33, 1901, p. 193].

(3) BECCARI. Sul dosamento dell'ammonica nel sangue [*Atti del VI Congresso internat. di Chimica applicata*, V° vol., p. 122, Rome, 1907].

Même avec cette disposition le procédé est long et délicat. Il exige environ 3 heures pour 100 grammes de sang, ainsi qu'il ressort des résultats consignés par BECCARI ⁽¹⁾.

Je pense qu'il y aurait avantage à adopter la technique suivante que j'emploie depuis près d'un an, et qui me donne de bons résultats :

Mettre dans une capsule tarée :

20 gr. de sang,
2 gr. de chlorure de sodium,
100 cc. d'eau,
IV gouttes d'acide acétique.

Porter à 90°, laisser refroidir et peser, retrancher le poids de la capsule. On a ainsi un poids P de liquide représentant 20 grammes de sang. Filtrer, recueillir et peser le liquide filtré, soit p son poids.

$$\frac{20 \times p}{P} = \text{N gr. (poids de sang sur lequel s'effectue le dosage).}$$

Additionner le liquide filtré de quelques gouttes de phénol-phtaléine. Verser de la soude à 4 0/0 jusqu'à neutralisation presque complète du liquide. Achèver la neutralisation avec de la soude N/100.

Ajouter 4 cc. de solution de formol au demi neutralisée (par de la soude N/100).

Verser, à l'aide d'une burette de Mohr, de la soude N/100 jusqu'à coloration rose faible persistante. Au nombre de centimètres cubes de soude N/100 versés après addition de formol, on ajoute 0^{cc},1 pour 3 cc. (correction).

Soit x le nombre obtenu

$$x \times 0^{\text{gr}},00017 = \text{AzH}^3 \text{ dans N gr. de sang.}$$

La même technique peut s'appliquer au sérum sanguin.

J'ai contrôlé l'exactitude du procédé en additionnant des prises de sang ou de sérum de quantités connues de sulfate d'ammoniaque. Toujours ces quantités furent retrouvées en plus de la quantité d'ammoniaque dosée primitivement.

En voici un exemple : à un sérum contenant par litre 0^{gr},056 d'ammoniaque, j'ai ajouté des quantités de sulfate d'ammoniaque correspondant à 0^{gr},042 et 0^{gr},068 d'ammoniaque. Au dosage j'ai retrouvé en plus de la quantité primitive : 0^{gr},043 et 0^{gr},067.

(1) BECCARI, *loc. cit.*, p. 125-123.

CHAPITRE VI

DOSAGE DE L'AMMONIAQUE URINAIRE

§ I. — Divers procédés employés.

Procédé de SCHLÖESING⁽¹⁾. — C'est un des plus exacts. Sous une cloche munie d'un bouchon à l'émeri et dont les bords rodés et garnis de suif reposent sur un verre dépoli, on dispose un petit cristalliseur contenant 20 cc. d'urine. Au-dessus du cristalliseur on place sur un triangle une capsule en verre renfermant 10 cc. d'acide sulfurique N/10. On ajoute à l'urine 6 cc. d'un lait de chaux, on referme, et après 5 à 4 jours on titre l'acide en excès.

Procédé de FOLIN⁽²⁾. — Ce procédé repose sur le principe suivant :

Lorsqu'on distille de l'urine pendant 45 minutes avec de la magnésie, toute l'ammoniaque des sels ammoniacaux passe dans la liqueur distillée, mais accompagnée de la quantité de cette base fournie par une hydrolyse partielle de l'urée, quantité appréciable.

Le dosage n'est donc possible que si on peut déterminer la quantité d'ammoniaque fournie par l'urée.

Or, MM. BERTHELOT et ANDRÉ⁽³⁾ ont montré que la décomposition de l'urée à l'ébullition en présence de la magnésie est sensiblement proportionnelle au temps. Après la première distillation de 45 minutes, on continue la distillation pendant un temps égal et on recueille une nouvelle quantité d'ammoniaque provenant uniquement de la décomposition de l'urée. En retranchant cette quantité

⁽¹⁾ SCHLÖESING. Mémoire sur le dosage de l'ammoniaque. Détermination de cette base dans le tabac [*Ann. chim. phys.*, (3), **31**, p. 153, 1851].

⁽²⁾ O. FOLIN. Ein einfaches Verfahren zur Bestimmung des Ammoniaks im Harn [*Zeits. f. physiol. Chemie*, **32**, p. 515, 1901].

⁽³⁾ BERTHELOT et ANDRÉ. Contribution à l'histoire de la décomposition des amides par l'eau, les alcalis et les acides étendus [*Ann. chim. Phys.*, (6), **44**, 1887, p. 317].

de celle qu'a fournie la première distillation, on a par différence l'ammoniaque des sels ammoniacaux.

Critique du procédé. — M. SALLERIN⁽¹⁾ a étudié la valeur de ce procédé. En opérant sur des mélanges d'urée et de chlorhydrate d'ammoniaque, et pratiquant divers dosages, il a obtenu les résultats suivants :

1^{re} solution. — La quantité d'acide sulfurique N/10 qui doit être neutralisée par l'ammoniaque du chlorhydrate d'ammoniaque est de 5 cc.

(Les nombres expriment des cc. d'acide sulfurique N/10.)

1 ^{re} distillation . . .	8 ^{cc} ,5	8 ^{cc} ,5	8 ^{cc} ,45	8 ^{cc} ,55
2 ^e distillation. . . .	3 ^{cc} ,5	3 ^{cc} ,55	3 ^{cc} ,85	3 ^{cc} ,85
Différence	4 ^{cc} ,8	4 ^{cc} ,75	4 ^{cc} ,6	4 ^{cc} ,4

2^e solution. — Le volume d'ammoniaque calculé est de 15 cc.

1 ^{re} distillation	18 ^{cc} ,5	18 ^{cc} ,5	18 ^{cc} ,15
2 ^e distillation	3 ^{cc} ,75	4 ^{cc} ,2	4 ^{cc} ,2
Différence.	14 ^{cc} ,55	14 ^{cc} ,3	13 ^{cc} ,95

Comme on voit, les résultats ne sont pas absolument constants et donnent tous une erreur par défaut.

D'ailleurs, l'auteur lui-même a abandonné son procédé pour la même raison et a proposé à la place le suivant :

Deuxième procédé FOLIN ⁽²⁾. — Il repose sur une observation de BOUSSINGAULT⁽³⁾ et consiste à additionner 25 cc. d'urine de 8 à 10 grammes de chlorure de sodium, de 5 à 10 cc. de pétrole ou de toluène et de 1 gramme de carbonate de soude sec. L'ammoniaque libérée est entraînée par un fort courant d'air et absorbée par de l'acide sulfurique décinormal. L'excès d'acide est titré en présence de rouge d'alizarine.

Procédé SCHAFER ⁽⁴⁾. — Comme le précédent, ce procédé a pour

(1) SALLERIN. Sur le dosage de l'urée et sur la détermination du rapport azoturique [*Thèse doct. univ.*, Lille, 1902, p. 54, Dugardin].

(2) FOLIN. Eine neue Methode zur Bestimmung des Ammoniaks im Harn und andern thierischen Flüssigkeiten [*Zeitsch. f. physiol. Chemie*, **37**, p. 161, 1905].

(3) BOUSSINGAULT. Recherches sur la quantité d'ammoniaque contenue dans l'urine [*Ann. chimie, phys.*, (3), **29**, 478].

(4) SCHAFER. *The Americ. Journ. of physiol.*, **8**, p. 350. — Sur le dosage de l'ammoniaque dans les urines [*Journ. Ph. Chem.*, (6), **47**, p. 525].

point de départ une observation de BOUSSINGAULT qui est la suivante : Si on distille dans le vide à 50° une urine additionnée de carbonate de soude, on obtient toute l'ammoniaque des sels ammoniacaux, sans qu'il y ait hydrolyse de l'urée.

L'ammoniaque est reçue dans l'acide sulfurique décinormal, dont l'excès est dosé en présence d'alizarine.

Procédé NENCKI et ZALESKY. — Les auteurs⁽¹⁾ opèrent par distillation dans le vide en présence de magnésie.

§ II. — Application du procédé à l'urine.

Action de l'acidité urinaire. — Pour appliquer le procédé de dosage à l'aide du formol à l'urine, il fallait s'assurer que la complexité d'un milieu acide tel que l'urine ne serait pas une entrave. Une expérience simple m'a montré qu'il n'en était rien.

Dans trois vases à précipiter, j'ai introduit 10 cc. d'urine, 100 cc. d'eau distillée bouillie, 0,50 d'hexaméthylène amine et quelques gouttes de phénol-phtaléine. J'ai neutralisé les trois liquides et j'ai ensuite ajouté 5 cc. d'acide sulfurique N/10 dans un, 7 cc. dans l'autre et 10 cc. dans le troisième. Il m'a fallu verser pour arriver à neutralité 5 cc. de soude dans le premier cas, 7 cc. dans le second, et 9^{cc},9 dans le troisième.

Restait à envisager l'influence possible des autres substances azotées sur la réaction.

Action de l'urée. — Quelques-unes des expériences consignées dans le tableau page 16 ont été faites en double en présence de 0g,10 d'urée pure; les résultats ont été les mêmes qu'en l'absence de ce corps. La présence d'urée n'est donc pas une cause d'erreur.

Action des amines. — Il était à prévoir que les sels d'amines auraient sur le formol une action analogue à celle des sels ammoniacaux. J'ai étudié l'action des chlorhydrates de diméthylamine et de triméthylamine, l'action des sels de monométhylamine ayant été

(¹) NENCKI ET ZALESKY. Ueber die Bestimmung des Ammoniaks in thierischen Flüssigkeiten und Geweben [*Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 33, p. 193, 1901].

étudiée par MM. CAMBIER et BROCHET⁽¹⁾. Ces auteurs ont vu que ce dernier corps⁽²⁾ se comportait vis-à-vis du formol exactement comme les sels ammoniacaux.

Pour chacune des deux amines, j'ai opéré sur des solutions de leur chlorhydrate en effectuant des prises d'essai telles que, la réaction étant totale, il y ait mise en liberté de 10 cc. d'acide décinormal.

J'ai additionné ces prises d'essai d'un grand excès de formol et j'ai constaté, dans le cas de la diméthylamine, une mise en liberté d'acide de 8 cc. environ au lieu de 10. En opérant sur la solution de chlorhydrate de triméthylamine, la mise en liberté d'acide a été presque nulle (0^{cc},2 environ au lieu de 10). On peut même se demander si cette faible réaction ne serait pas due à de l'ammoniaque que la triméthylamine essayée contiendrait comme impureté.

Ces résultats ne diminuent pas la valeur du procédé, car si la présence de triméthylamine a été signalée dans l'urine humaine, ce n'est qu'à l'état de traces. D'ailleurs tous les procédés basés sur la mise en liberté de l'ammoniaque par un alcali dosent en même temps que l'ammoniaque les amines volatiles.

Action des amino-acides. — VON HUGO SCHIFF⁽³⁾ a constaté que l'addition de formaldéhyde à une solution d'amino-acide, donnant des combinaisons méthyléniques avec la fonction amine, exaltait la fonction acide et la rendait sensible sur un indicateur.

Récemment, SOERENSEN⁽⁴⁾ se basant sur les travaux de SCHIFF a indiqué une méthode de dosage des amino-acides où ce principe est appliqué.

Au cours du dosage de l'ammoniaque urinaire par le formol, les amino-acides influenceront donc sur les résultats. Mais leur présence dans l'urine est assez faible pour que ces résultats conservent une exactitude suffisante. On verra d'ailleurs plus loin l'importance de leur action et le moyen de l'éviter.

Action de diverses substances azotées. — Des solutions titrées de sulfate d'ammoniaque ont été dosées par le formol en présence

(1) CAMBIER ET BROCHET. Action de l'aldéhyde formique sur le chlorhydrate d'hydroxylamine et sur le chlorhydrate de monométhylamine [*C. R. Ac. Sc.*, **120**, 1895, p. 449].

(2) Ainsi que les sels d'hydroxylamine.

(3) VON HUGO SCHIFF. Ueber Methylenasparagine [*Ann. d. Chemie*, **310**, p. 25]. — Trennung von Amin- und Säurefunction in Lösungen von Amin-säuren mittelst formaldehyd [*ibid.*, **319**, p. 59; **325**, p. 548].

(4) SOERENSEN. Enzymstudien [*Bioch. Zeitschr.*, **7**, p. 45].

d'acide urique, d'acide hippurique, de créatine et de créatinine. Les résultats ne furent pas influencés par la présence de ces corps.

Technique du dosage (1). — Les divers points étant éclaircis, je me suis arrêté à la technique suivante : 10 cc. d'urine sont étendus à 100 cc. par de l'eau distillée privée de gaz carbonique par ébullition et additionnés de quelques gouttes de phénol-phtaléine. On neutralise en versant par petites quantités de la soude à 0^{gr},50 0/0 (ou de la soude décijnormale) et en s'arrêtant dès l'obtention d'une teinte rose pâle. On ajoute ensuite 20 cc. de solution neutre de formol au demi et, à l'aide d'une burette de Mohr, on verse de la soude décijnormale jusqu'à coloration rose. Au nombre de centimètres cubes de soude décijnormale versés après addition de formol, on ajoute celui provenant de la correction (0^{cc}1 par 3 cc. de soude N/10).

Soit x le chiffre obtenu,

$$x \times 0^{\text{gr}},17 = \text{ammoniaque par litre.}$$

Expériences de contrôle. — Pour contrôler l'exactitude du procédé, j'ai pratiqué divers dosages sur la même urine, puis sur cette urine additionnée d'une quantité connue de sulfate d'ammoniaque. Voici quelques résultats :

Nombre de centim. cubes d'urine.	Nombre de centim. cubes de soude versés (chiffre de lecture + correction).	Teneur en ammoniaque rapportée au litre.
<i>Urine n° 1.</i>		
10 cc.	5 ^{cc} ,85	0,654
10 cc.	5 ^{cc} ,85	0,654
20 cc.	7 ^{cc} ,7	0,654
<i>Urine n° 2.</i>		
10 cc.	2 ^{cc}	0,540
10 cc.	2 ^{cc}	0,540
20 cc.	3 ^{cc} ,95	0,555
<i>Urine n° 3.</i>		
10 cc.	2 ^{cc} ,75	0,467
10 cc.	2 ^{cc} ,75	0,467
20 cc.	5 ^{cc} ,5	0,467

(1). J'ai indiqué la méthode de dosage de l'ammoniaque urinaire, le 1^{er} mai 1907 à la Société de Pharmacie :

La Technique a paru dans le *Journal de Pharmacie et de Chimie*, le 16 juin

Urine n° 1 (titrant 0,654 d' AzH^3 par litre). — 10 cc. de cette urine ont été additionnés de 5 cc. de la solution de sulfate d'ammoniaque à 2^{gr},5611 d' AzH^3 par litre.

Urine n° 2 (titrant 0^{gr},540 d' AzH^3 par litre). — 10 cc. de cette urine ont été additionnés de 4 cc. de la solution de sulfate d'ammoniaque.

Urine n° 5 (titrant 0^{gr},467 d' AzH^3 par litre). — 10 cc. de cette urine ont été additionnés de 5 cc. de la solution de sulfate d'ammoniaque.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Urines	Nombre théorique de cc. de soude N/10.	Nombre de cc. versés après correction.	Teneur théorique en ammoniaque.	Teneur en ammoniaque trouvée.
N° 1.	$5^{\text{cc.}},85 + 7^{\text{cc.}},5 = 11^{\text{cc.}},35$	11 ^{cc} ,3	$0,654 + 1,280 = 1,934$	1,921
N° 2.	$2^{\text{cc.}} + 6^{\text{cc.}} = 8^{\text{cc.}}$	8 ^{cc}	$0,540 + 1,024 = 1,564$	1,560
N° 5.	$2^{\text{cc.}},75 + 7^{\text{cc.}},5 = 10^{\text{cc.}},25$	10 ^{cc} ,25	$0,467 + 1,280 = 1,747$	1,742

Ces expériences montrent que le milieu urinaire n'empêche pas le dosage exact des sels ammoniacaux. Mais il reste à envisager l'influence des substances telles que les amino-acides de l'urine donnant des composés acides après addition de formaldéhyde.

L'expérience suivante nous renseigne sur l'action de ces substances :

10 cc. d'urine contenant d'après le dosage au formol 0,00629 d'ammoniaque, soit 0^{gr},629 par litre, sont additionnés, dans une capsule de porcelaine, de 0^{gr},50 de magnésie récemment calcinée et mis à dessécher au B. M. La capsule est disposée de telle façon qu'elle baigne dans la vapeur sans toucher l'eau en ébullition. Au bout de trois heures, le contenu de la capsule est mis en suspension dans l'eau et dissous avec le moins possible d'acide acétique.

On neutralise exactement, en présence de phénol-phtaléine, la

1907, dans les *Comptes rendus de la Société de Biologie*, le 17 mai 1907, et dans le *Bulletin de la Société chimique de France*, le 20 août 1907, p. 900.

Une analyse du travail se trouve dans le *Chemisches Central-Blatt* [RONCHÈSE (A.). Bestimmung des NH^3 . *Chem. Centralbl.*, 1907, p. 1115 et 1710].

Or, dans le numéro de mai 1908 du *Zeitschrift für Analytische Chemie*, M. HANS Malfatti publie comme originale une méthode semblable de dosage de l'ammoniaque urinaire. Les manipulations sont les mêmes : neutralisation de l'urine, addition de formol neutre et dosage de l'acidité qui en résulte. Manque seule la correction nécessitée par l'action des sels ammoniacaux sur la phénol-phtaléine. J'ai tenu à signaler ma priorité sur cette question.

solution ainsi obtenue et on ajoute 10 cc. de solution neutre de formol au demi. Le mélange se décolore et, pour arriver à la teinte rose, il faut verser 0^{cc},45 de soude N/10. Dans l'urine considérée, il y a donc des corps non volatils donnant au formol la même réaction que les sels ammoniacaux. La quantité de ces substances (exprimée en ammoniacque) est pour les 10 cc. d'urine de 0^{gr},00025, soit par litre 0,025.

Dans cette urine, les résultats fournis par le dosage direct au formol sont donc trop élevés de 5.9 0/0.

Cette expérience a été répétée sur diverses urines de teneur différente en ammoniacque. Dans tous les cas, la valeur des substances fixes sur lesquelles agit le formol a oscillé entre 2 et 4 0/0 de l'ammoniacque totale.

Les mêmes expériences reproduites en opérant la dessiccation dans une étuve réglée à 45 degrés ou dans le vide à la température ordinaire ont donné les mêmes résultats ou, dans quelques cas, des résultats légèrement supérieurs.

Il est probable que la presque totalité des substances fixes de l'urine, donnant, après addition de formol, une réaction acide, est constituée par des amino-acides. Si cela était démontré, on conçoit la possibilité d'un dosage assez simple des amino-acides de l'urine. L'urine serait évaporée au-dessous de 100 degrés en présence de magnésie calcinée; le résidu repris par l'eau serait neutralisé et on doserait ensuite l'acidité produite par addition de formol neutre.

En supposant même qu'on ne dose pas ainsi les seuls amino-acides, l'étude des variations de ce résidu aminé fixe me paraît susceptible d'applications en pathologie.

De ce qui précède, il résulte que le procédé de dosage de l'ammoniacque urinaire est exact à une approximation comprise entre 2 et 5 0/0.

Une étude approfondie des autres procédés de dosage de l'ammoniacque urinaire montrerait des causes d'erreur au moins aussi importantes pour des manipulations beaucoup plus longues.

Si, pour des recherches délicates, on voulait obtenir un dosage tout à fait exact de l'ammoniacque urinaire, on n'aurait qu'à retrancher du résultat obtenu par le dosage ordinaire, la part qui revient au résidu aminé fixe. Pour obtenir celui-ci, on évaporerait, pendant trois heures à la vapeur d'eau, l'urine additionnée de magnésie.

DEUXIÈME PARTIE

DOSAGE DE L'URÉE

CHAPITRE I

PROCÉDÉS EXACTS DE DOSAGE

§ I. — *Procédé de MOERNER et SJOEQVIST*⁽¹⁾.

On traite l'urine en milieu éthéro-alcoolique, par une solution de chlorure de baryum additionnée de baryte caustique. Au bout de vingt-quatre heures, toutes les substances azotées, à l'exception de l'urée, de l'acide hippurique et des sels ammoniacaux, sont précipitées. On filtre et on concentre sous pression réduite en présence de magnésie calcinée. On élimine ainsi l'ammoniaque des sels ammoniacaux. Sur le résidu on pratique un dosage d'azote d'après KJELDAHL.

Ce procédé a été critiqué par SALASKIN et ZALESKI ⁽²⁾ et ensuite par BRAUNSTEIN ⁽³⁾ qui ont établi qu'en opérant l'hydrolyse de l'urée par la méthode de KJELDAHL, les résultats étaient rendus trop forts par la présence d'acide hippurique.

Ils ont en conséquence proposé les modifications suivantes :

§ II. — *Modification de SALASKIN et ZALESKI.*

Ces auteurs pratiquent l'hydrolyse de l'urée en présence d'acide chlorhydrique en tube scellé pendant 3 heures à 130°-140°.

⁽¹⁾ MOERNER ET SJOEQVIST [*Skand. Arch. f. Physiolog.*, 2, p. 465, 1891].

⁽²⁾ SALASKIN ET ZALESKI. Ueber die Harnstoffbestimmung im Harne [*Zeitschr. f. physiol. Chemie*, 28, p. 73, 1 99].

⁽³⁾ BRAUNSTEIN. Ueber die Harnstoffbestimmung im Harne [*Ibid.*, 31, p. 581, 1900].

Dans ces conditions l'acide hippurique ne fournit pas d'ammoniaque, mais le procédé suivant d'hydrolyse est bien préférable.

§ III. — *Modification de BRAUNSTEIN.*

BRAUNSTEIN achève le procédé de MÖERNER et SJÖQVIST en maintenant le liquide concentré à l'étuve à 140-145° pendant 4 heures 1/2 en présence d'acide phosphorique cristallisé.

Là encore, il ne se produit pas d'ammoniaque aux dépens de l'acide hippurique.

Dans une étude très sérieuse sur les procédés de dosage de l'urée, M. SALLERIN⁽¹⁾ conclut, à propos du procédé de MÖERNER et SJÖQVIST, modifié par BRAUNSTEIN : « 1° que l'élimination des matériaux azotés que doit précipiter la baryte est suffisante; 2° que le déplacement de l'ammoniaque est suffisamment complet; 3° que des corps tels que l'acide hippurique, ne sont pas atteints d'une manière sensible pendant l'hydrolyse de l'urée ».

Mais cet auteur a trouvé que la température et le temps de chauffe n'étaient pas suffisants pour hydrolyser l'urée et a proposé de maintenir le mélange pendant 7 heures à 150°-155°.

Le procédé ainsi modifié est le plus exact que l'on connaisse, mais les opérations qu'il exige sont assez longues et délicates.

Le procédé suivant dû à FOLIN est d'une exécution plus facile.

§ IV. — *Procédé FOLIN*⁽²⁾.

Principe : Le chlorure de magnésium cristallisé fond vers 112°-115° dans son eau de cristallisation et le liquide ainsi obtenu bout à 160°. En chauffant de l'urine en présence de ce sel et d'acide chlorhydrique, on transforme assez rapidement l'urée en chlorure d'ammonium. On dose ensuite l'ammoniaque par distillation et on déduit de la quantité trouvée, celle qui revient à l'ammoniaque préformée.

Pour l'application du procédé à l'urine, on introduit dans une fiole d'Erlenmeyer de 200 cc. environ, 3 cc. d'urine, 20 gr. de chlo-

⁽¹⁾ SALLERIN. Sur le dosage de l'urée et sur la détermination du coefficient azoturique [*Thèse de Doct. univ.*, p. 22, 1902].

⁽²⁾ FOLIN. Eine neue Methode zur Bestimmung der Harnstoffe im Harne [*Zeitschr. f. phys. Chem.*, 32, p. 504, 1901].

rure de magnésium et 2 cc. d'acide chlorhydrique. On ferme à l'aide d'un bouchon traversé par un tube de 20 cm. de long et 5 mm. de large, servant de réfrigérant. On chasse l'excès d'eau en chauffant assez activement jusqu'à ce que les gouttes d'eau condensées produisent en tombant un sifflement particulier. D'ailleurs, à ce moment, la mousse qui restait au fond du vase monte et a tendance à sortir par le tube de verre. On baisse alors la flamme et on continue à chauffer pendant 30 minutes. Au bout de ce temps et avant le complet refroidissement de la masse, on ajoute de l'eau, d'abord goutte à goutte, et ensuite plus abondamment. On transvase la solution dans un ballon d'un litre et on dilue jusqu'à 500 cc. environ. On verse ensuite 7 à 8 cc. d'une lessive de soude à 20 pour 100 et on distille en recevant l'ammoniaque dans de l'acide sulfurique N/10. La distillation doit durer une heure un quart. Quand elle est terminée, on fait bouillir la solution acide pour chasser l'acide carbonique qu'elle contient et on titre l'excès d'acide.

Le chlorure de magnésium du commerce contient toujours une faible quantité d'ammoniaque dont il faut tenir compte dans les calculs.

La détermination de l'ammoniaque préformée est longue, que l'on emploie l'un ou l'autre des deux procédés indiqués par FOLIN. Je pense qu'il y aurait avantage à employer le procédé au formol décrit p. 34.

Lorsqu'on ajoute de la soude dans le liquide à distiller, il y a formation d'hydrate de magnésie et c'est pour cette raison que la distillation doit durer longtemps. M. DE SAINT-MARTIN⁽¹⁾ préfère effectuer l'hydrolyse de l'urée en chauffant l'urine en présence de chlorure de lithium et d'acide chlorhydrique. Dans le liquide à distiller provenant de la dissolution des produits de l'hydrolyse, l'addition de soude ne provoque pas de précipité, la lithine étant soluble. La distillation ne dure qu'une demi-heure, mais l'hydrolyse dure une heure.

*
* *

On voit, en comparant les deux procédés, que celui de FOLIN est d'une commodité d'exécution supérieure à celle du procédé MÖERNER et SJÖQVIST modifié par BRAUNSTEIN. Est-il aussi exact? Les expériences de contrôle de son procédé ont donné à FOLIN les résultats

(¹) DE SAINT-MARTIN. Modification du procédé Folin pour le dosage de l'urée dans l'urine [*C. R. Soc. Biologie*, 21 janvier 1905, p. 89].

ci-dessous⁽¹⁾. Les chiffres représentent des grammes d'urée par litre d'urine.

<i>D'après son procédé</i>	17,50	14,00	20,45	19,10	28,50
<i>D'après le procédé de M. S. modifié. .</i>	17,20	15,20	20,75	19,70	28,50

En outre, M. SALLERIN, qui a fait une étude approfondie du procédé FOLIN, a étudié comparativement par ces deux procédés deux urines normales. Il a obtenu les résultats suivants, les chiffres romains étant les numéros d'ordre des urines étudiées dans son travail :

	XVII	XVIII	XIX
	—	—	—
<i>D'après Folin</i>	19,41	28,25	23,08
	19,41	28,47	23,08
	19,31	28,48	23,08
	19,51	28,47	23,08
<i>D'après Braunstein. . . .</i>	19,20	28,35	23,20
	19,12	28,41	23,10

Aussi cet auteur conclut-il à ce sujet : « Le procédé FOLIN donne à peu près les mêmes résultats que celui de BRAUNSTEIN, tout en étant d'une exécution plus rapide et plus commode. Ce procédé se prête donc très bien aux recherches de physiologie exigeant des dosages précis de l'urée. »

⁽¹⁾ SALLERIN [*Loc. cit.*, p. 45].

CHAPITRE II

MÉTHODES GAZOMÉTRIQUES

La conclusion de M. SALLERIN concernant le procédé FOLIN est parfaitement justifiée. Mais, pour être plus rapide que celui de MOERNER-SJÖEQVIST-BRAUNSTEIN, ce procédé ne l'est pas encore assez pour pouvoir entrer dans la pratique courante. Sans compter les manipulations dues au dosage de l'ammoniaque préformée, le dosage demande environ deux heures. Or, on ne peut faire de dosages en série qu'en ayant un nombre d'appareils de Schlösing correspondant au nombre de dosages. Bien peu de laboratoires de physiologie possèdent plus d'un ou deux de ces appareils.

Aussi, malgré leurs imperfections bien reconnues, emploie-t-on encore couramment les méthodes gazométriques à l'hypobromite de soude.

Lorsqu'on veut simplement se rendre compte par un dosage d'urée, de la valeur de l'élimination azotée, ces méthodes conservent leur valeur. Qu'un malade élimine par jour 26 gr. 08⁽¹⁾ d'urée (résultat obtenu par dosage à l'hypobromite de soude après défécation au sous-acétate de plomb) ou 24 gr. 46 (résultat obtenu par le procédé FOLIN) les indications fournies par le dosage restent les mêmes. Il n'en est plus ainsi lorsqu'on veut établir le rapport azoturique. Dans les exemples précédents, pour 28 gr. 72 d'azote total exprimé en urée, les rapports obtenus sur la même urine sont respectivement 0,93 et 0,85.

Il est à peine besoin de faire remarquer qu'avec une telle approximation les indications fournies par le premier rapport sont pleinement erronées. On avait fondé des espérances sur l'emploi de l'acide

(1) Voir tableau, p. 47.

phosphotungstique comme précipitant des substances autres que l'urée.

Ce déféquant, outre l'inconvénient qu'il présente de ne pas éliminer la totalité de l'ammoniaque, offre celui plus grave de précipiter, dans certains cas, une partie de l'urée. C'est un réactif inconstant.

Aussi, étudiant les méthodes gazométriques, M. SALLERIN ⁽¹⁾ conclut-il :

« Ces méthodes, bonnes pour un dosage approximatif de l'urée, quand on veut simplement apprécier à peu près l'importance de la désassimilation azotée, ne se prêtent pas à l'étude de la répartition de l'azote entre l'urée et les autres matériaux. »

(1) SALLERIN [*Loc. cit.*, p. 60].

CHAPITRE III

EMPLOI DE LA MÉTHODE GAZOMÉTRIQUE POUR LE DOSAGE EXACT DE L'URÉE

Les causes qui empêchent le dosage gazométrique exact de l'urée urinaire peuvent se ramener à deux :

La décomposition incomplète de l'urée par l'hypobromite et la mise en liberté d'azote aux dépens d'autres substances azotées.

§ I. — *Action de l'hypobromite de soude sur l'urée.*

On sait que l'hypobromite de soude ne dégage pas la totalité de l'azote de l'urée. D'après HÜFNER, seulement les 92 centièmes de l'azote seraient mis en liberté. En réalité, ce pourcentage varie dans des proportions assez grandes (3 à 4 %) selon que l'hypobromite est de préparation plus ou moins récente.

L'addition de glucose, préconisée par quelques auteurs, rapproche le dégagement du chiffre théorique, mais ne permet jamais de l'atteindre.

On obtient, au contraire, des résultats exacts en comparant le volume d'azote dégagé avec celui fourni dans les mêmes conditions par une solution d'urée pure.

§ II. — *Influence des diverses substances azotées sur l'exactitude du résultat.*

Parmi les substances azotées qui, par mise en liberté d'azote, faussent les résultats du dosage gazométrique de l'urée, l'ammoniaque est la plus importante puisqu'elle contient 82, 5 % de son poids d'azote et qu'elle le dégage en totalité.

J'ai cherché si on ne pourrait, par un dosage préalable de l'ammo-

niague rendre, exacte la méthode gazométrique qui présente une réelle commodité d'exécution.

Il était indispensable de s'assurer de l'importance des perturbations apportées par les substances azotées. Trois seulement sont en quantité suffisante pour modifier sensiblement le résultat : l'acide urique, la créatinine et l'acide hippurique.

Seules les deux premières sont attaquées par l'hypobromite, comme je m'en suis assuré.

Action de l'hypobromite de soude sur l'acide urique. — L'hypobromite employé avait été préparé quelques instants auparavant selon la formule donnée par Yvon ⁽¹⁾. L'acide urique était en solution alcaline et l'azote dégagé était mesuré à 12° et 750 millimètres. A cette température et à cette pression, l'azote contenu dans 0^{gr},01 d'acide urique mesure 2^{cc}84. Les résultats obtenus furent les suivants.

Poids d'acide urique.	Volume d'azote de l'acide urique.	Volume d'azote dégagé.	Azote dégagé 0/0
0 ^{gr} ,05	14 ^{cc} ,2	6 ^{cc} ,2	43,6
0 ^{gr} ,03	8 ^{cc} ,5	4 ^{cc} ,2	49,4
0 ^{gr} ,02	5 ^{cc} ,7	2 ^{cc} ,3	40,5
0 ^{gr} ,01	2 ^{cc} ,85	1 ^{cc} ,3	42,1

On voit que la moitié environ de l'azote de l'acide urique est dégagé dans un dosage à l'hypobromite opéré directement sur l'urine. Peut-on éliminer cette cause d'erreur? Quelques auteurs faisant déféquer l'urine au sous-acétate de plomb avant d'opérer le dosage, j'ai cherché combien il restait d'acide urique après l'action de ce réactif. Voici les résultats obtenus :

Acide urique en solution.	Acide urique restant en solution après défécation.	Quantité précipitée 0/0
0 ^{gr} ,0516	0,00536	95,5
0 ^{gr} ,0344	0,00252	92,7
0 ^{gr} ,0172	0,00084	95,2

(1).

Brome. 5 cc.
Lessive de soude, D=1 35. 50 gr.
Eau distillée. 100 gr.

On peut conclure de ces deux expériences : 1^o qu'il y a intérêt à déféquer au sous-acétate de plomb avant d'opérer le dosage à l'hypobromite; 2^o qu'après défécation l'erreur due à l'acide urique est absolument négligeable.

En effet, soit une urine contenant par litre 25 grammes d'urée et 0^{gr}70 d'acide urique. Admettons qu'après défécation il reste en solution 7,5 % de l'acide urique, chiffre le plus fort que j'aie obtenu, admettons que cet acide dégage 49,4 % de son azote, maximum constaté; même dans ce cas la quantité d'azote fournie par l'acide urique et exprimée en urée ne sera que de 0^{gr}016 par litre.

Action de l'hypobromite de soude sur la créatinine. — La prise d'essai de créatinine dissoute dans l'eau est traitée par de l'hypobromite formule Yvon. L'azote dégagé est mesuré à 17^o et 752 millimètres. Dans ces conditions, l'azote contenu dans 0^{gr},01 de créatinine occupe un volume de 3^{cc},24.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Poids de créatinine.	Volume d'azote de la créatinine.	Volume d'azote dégagé.	Azote dégagé 0/0
0 ^{gr} ,01	3 ^{cc} ,25	0 ^{cc} ,4	12,0
0 ^{gr} ,015	4 ^{cc} ,85	0 ^{cc} ,5	10,5
0 ^{gr} ,02	6 ^{cc} ,5	0 ^{cc} ,8	12,0

Avec l'hypobromite Yvon le dégagement d'azote atteint son maximum au bout de quelques minutes de contact.

Avec l'hypobromite formule MOREIGNE ⁽¹⁾, plus riche en brome, on constate, au contraire, que le dégagement gazeux se poursuit quelque temps. On observe un dégagement assez actif pendant 10 minutes environ.

Ainsi, dans une expérience :

Le volume gazeux était de	0 ^{cc} ,8	après	1 minute de contact.
—	1 ^{cc} ,8	—	5 minutes de contact.
—	2 ^{cc} ,2	—	10
—	2 ^{cc} ,5	—	15

(¹) Brome 10 cc.
Soude caustique à 1,33 120 cc.
Eau distillée 60 cc.

En répétant avec l'hypobromite MOREIGNE les expériences faites avec l'hypobromite Yvon, j'ai obtenu les résultats suivants :

Poids de créatinine.	Volume d'azote de la créatinine.	Volume d'azote dégagé.	Azote dégagé 0/0
0 ^{gr} ,01	3 ^{cc} ,25	0 ^{cc} ,5	15,3
0 ^{gr} ,015	4 ^{cc} ,85	1 ^{cc} ,3	26,8
0 ^{gr} ,02	6 ^{cc} ,5	1 ^{cc} ,1	16,9

Le temps de contact de la solution de créatinine avec l'hypobromite était de 5 minutes dans cette expérience, comme dans celle effectuée avec l'hypobromite Yvon.

Il semble donc se dégager de ces deux expériences qu'il n'y aurait pas avantage à employer un réactif trop riche en brome.

On a vu qu'avec le réactif formule Yvon, la créatinine fournit environ 12 % de son azote. C'est là une erreur qui, sans être négligeable, n'est pas de très grande importance.

Supposons une urine ayant une teneur en créatinine de 1^{gr},25 par litre, teneur bien au-dessus de la moyenne puisque NEUBAUER indique 0^{gr},40 à 0^{gr},86 pour 1000 (avec 1500 à 1600 cc. d'urine en 24 heures ⁽¹⁾). La quantité d'azote (exprimée en urée) fournie par la créatinine sera alors de 0^{gr},12 environ.

Il faut remarquer que cet inconvénient de la méthode gazométrique est partagé par le procédé FOLIN. En effet, SALLERIN ⁽²⁾ traitant, par le procédé d'hydrolyse de FOLIN, des solutions de créatinine, a obtenu dans six expériences les résultats suivants :

Quantité de créatinine transformée en ammoniacque.

10,75 0/0 2,61 0/0 16,21 0/0 4,34 0/0 6,45 0/0 2,61 0/0

Comme on le voit, la décomposition de la créatinine est assez irrégulière dans ce procédé. En appliquant ces chiffres à l'exemple cité précédemment, l'erreur en plus, exprimée en urée, serait de 0^{gr},025 à 0^{gr},16 avec une moyenne de 0^{gr},07 environ.

⁽¹⁾ NEUBAUER et J. VOGEL [*De l'urine et des sédiments urinaires*, Paris, 1877, p. 21].

⁽²⁾ SALLERIN [*Loc. cit.*, p. 44].

§ III

On peut conclure des expériences précédentes que dans le dosage gazométrique de l'urine déféquée au sous-acétate de plomb, l'erreur est presque entièrement due aux sels ammoniacaux.

C'est également ce qui ressort des déterminations suivantes faites sur six urines normales :

1° J'ai fait directement sur l'urine le dosage de l'urée par l'hypobromite de soude formule YVON et avec un uréomètre YVON.

2° J'ai fait le même dosage après défécation au sous-acétate de plomb.

3° J'ai soustrait des résultats précédents le chiffre d'ammoniaque obtenu par dosage au formol et exprimé en urée.

4° J'ai dosé l'urée par le procédé FOLIN en déterminant l'ammoniaque comme précédemment.

Chacune de ces déterminations a été faite en double et les chiffres indiqués représentent la moyenne des deux résultats. Ces résultats furent presque toujours concordants ou, dans le cas contraire, très voisins.

Les valeurs obtenues, exprimées en grammes et rapportées au litre, sont indiquées dans le tableau suivant. Les chiffres romains représentent les numéros d'ordre des urines :

PROCÉDÉ EMPLOYÉ	I	II	III	IV	V	VI
<i>Dosage gazométrique :</i>						
a) Directement sur l'urine.	15,58	20,99	14,08	26,82	22,01	15,90
b) Sur l'urine déféquée par le plomb.	15,53	20,46	13,68	26,08	21,75	15,65
c) Obtenu après soustraction des résultats précédant ceux fournis par le dosage de l'ammoniaque	12,64	18,46	12,71	24,46	20,00	14,45
<i>Dosage par le procédé FOLIN. .</i>	12,54	18,55	12,89	24,42	20,04	14,51

Pour nous rendre compte de l'influence exercée sur le rapport azoturique par les différences de résultats signalées ci-dessus, supposons que chacune de ces urines ait un rapport azoturique de

85 % et que la teneur réelle en urée soit celle fournie par le procédé FOLIN; calculons alors le rapport correspondant à chacune des déterminations gazométriques et nous obtiendrons de la sorte les résultats suivants :

Rapports azoturiques obtenus d'après les résultats fournis par :

PROCÉDÉ EMPLOYÉ	I	II	III	IV	V	VI
I. — <i>Le dosage gazométrique :</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
a) Opéré directement sur l'urine.	90,7	96,4	92,8	95,5	92,9	95,1
b) Sur l'urine déféquée par le plomb.	90,5	94,0	90,2	90,8	92,1	91,6
c) Sur l'urine déféquée par le plomb et soustractions des résultats fournis par la détermination de l'ammoniaque.	85,6	84,8	85,8	85,1	84,8	84,6
II. — <i>Le procédé FOLIN.</i>	85,0	85,0	85,0	85,0	85,0	85,0

§ IV. — *Technique.*

Les diverses expériences qui viennent d'être exposées montrent qu'on peut obtenir par gazométrie un dosage exact de l'urée urinaire. Les résultats sont comparables à ceux fournis par la méthode précise de FOLIN et, par conséquent, à ceux fournis par la méthode MÖERNER-SJÖEQVIST modifiée. Il suffit d'effectuer les opérations suivantes.

10 cc. d'urine sont additionnés de 10 cc. du réactif ci-dessous :

Sous-acétate de plomb liquide. 100 cc.
Eau distillée. 150 cc.

On agite et on filtre; on a ainsi de l'urine diluée au demi. Avec cette urine diluée, on opère un dosage gazométrique en comparant le volume d'azote dégagé avec celui fourni par un volume deux fois moindre d'une solution d'urée pure à 2 %. Si l'urine contient du sucre, on additionne la prise d'essai de la solution type d'urée de 1 cc. de solution de glucose à 5 %.

On pratique ensuite le dosage de l'ammoniaque urinaire selon la technique p. 54 et le poids d'ammoniaque contenue dans un litre d'urine est multiplié par 1,764. On retranche le nombre obtenu du nombre de grammes d'urée par litre indiqué par le dosage gazomé-

trique. La différence donne le poids d'urée contenue dans un litre d'urine.

Exemple. — Un dosage gazométrique pratiqué après défécation par le plomb donne pour résultat : 21^{er},05 d'urée par litre. L'urine examinée contient 0^{er},70 d'ammoniaque par litre.

La teneur en urée de cette urine sera de :

$$21^{\text{er}},05 - (0^{\text{er}},70 \times 1,764) = 19^{\text{er}},82 \text{ par litre.}$$

Si le dosage de l'ammoniaque ne doit servir qu'à la détermination de l'urée, on obtient immédiatement la teneur de l'ammoniaque exprimée en urée en remplaçant la formule p. 34

$$x \times 0^{\text{er}},17 = \text{ammoniaque par litre.}$$

par la suivante

$$x \times 0^{\text{er}},50 = \text{ammoniaque exprimée en urée.}$$

La durée d'un dosage d'ammoniaque n'étant que de quelques minutes n'est pas un obstacle à l'application de la méthode, d'autant plus que ce dosage peut avoir une utilité clinique incontestable.

TROISIÈME PARTIE

DOSAGE DE L'ACIDE URIQUE

CHAPITRE I

PRINCIPAUX PROCÉDÉS DE DOSAGE

Les diverses méthodes de dosage de l'acide urique utilisent les deux propriétés suivantes de ce corps :

1^o Son insolubilité relative dans l'eau et l'insolubilité plus grande de ses diverses combinaisons métalliques : combinaisons argentique ou mieux argentico-magnésienne, cuprique, barytique ou ammoniacale ;

2^o La propriété qu'il possède d'être décomposé par les substances oxydantes.

Un grand nombre d'entre elles utilisent les deux propriétés ; la première pour obtenir l'acide urique en l'absence de corps voisins, la deuxième pour son dosage proprement dit.

Toutes ces méthodes peuvent se diviser en deux classes :

1^o Méthodes par précipitation directe ;

2^o Méthodes par précipitation sous forme de composé insoluble.

§ I. — *Méthodes par précipitation directe.*

Procédé HEINTZ (1). — C'est le plus ancien des procédés. L'urine filtrée est additionnée d'acide chlorhydrique et laissée au repos

(1) VON W. HEINTZ. Ueber die quantitative Bestimmung der Harnsäure [Pogg. *Annal.*, 70, 1847, p. 123].

pendant quarante-huit heures dans un endroit frais. L'acide urique se précipite, on le recueille, on le lave à l'alcool, on le sèche et on le pèse. Ce procédé comporte des causes d'erreurs en plus et en moins; aussi, malgré certaines corrections proposées, les résultats sont tout à fait inexacts.

Procédé BAYRAC ⁽¹⁾. — Dans ce procédé on recueille l'acide urique comme précédemment, mais, au lieu de le peser, on le décompose à chaud par l'hypobromite de sodium. Il y a mise en liberté d'azote que l'on mesure.

§ II. — Méthodes par précipitation sous forme de composé insoluble.

Procédé SALKOWSKY ⁽²⁾-*LUDWIG* ⁽³⁾. — Ce procédé consiste à précipiter l'acide urique à l'état de sel double qu'on décompose ensuite pour avoir l'acide urique sous un petit volume.

100 cc. d'urine sont additionnés de 10 cc. de mixture magnésienne et de 10 cc. de solution ammoniacale de nitrate d'argent. L'acide urique se précipite sous forme d'urate double d'argent et de magnésium. On recueille le précipité, on le lave et on le fait tomber dans un verre de Bohême. On porte ensuite au B.-M. et on verse une solution chaude de sulfure de sodium. Il y a double décomposition, formation de sulfure d'argent et d'urate alcalin qu'on sépare par filtration.

La solution d'urate alcalin est évaporée au B.-M. après addition d'acide chlorhydrique en quantité suffisante pour rendre le milieu acide. Quand cette solution est réduite à 20 cc, on la transporte dans un endroit frais où on l'abandonne pendant 24 heures.

Dans ces conditions, l'acide urique se précipite souillé par du soufre. On le recueille, on le lave successivement à l'eau, à l'alcool, à l'éther, au sulfure de carbone, puis de nouveau à l'éther. Enfin on le dessèche à 100 degrés et on le pèse.

Ce procédé est le meilleur de tous ceux actuellement connus;

⁽¹⁾ BAYRAC. Dosage de l'acide urique des urines au moyen d'une solution d'hypobromite de soude à chaud [*Arch. méd. et pharm. mil.*, mai 1890, p. 360, et in *C. R. S.*, 110, p. 352, 1890].

⁽²⁾ SALKOWSKY [*Die Lehre von Harn*, Berlin, 1882, p. 96].

⁽³⁾ LUDWIG [*Arch. der Pharm.*, 1885, p. 653].

malheureusement, la lenteur des opérations qu'il exige en restreint l'emploi. Il sert à contrôler les procédés plus rapides qui peuvent être présentés.

Procédé HAYCRAFT ⁽¹⁾ *modifié par DEROIDE* ⁽²⁾. — Dans ce procédé on précipite l'acide urique à l'état d'urate double d'argent et de magnésium ; mais au lieu de libérer l'acide urique, on dose, après lavage du précipité, l'argent qui s'y trouve. De cette quantité on déduit celle d'acide urique contenue dans la prise d'essai.

Pour le dosage de l'argent, on dissout le précipité d'urate double dans l'acide azotique, et on dose par le sulfocyanure d'ammonium en présence d'alun de fer.

Ce procédé n'est pas comparable au précédent, car il dose, en même temps que l'acide urique, l'ensemble des composés xantho-uriques. De plus, le lavage du précipité jusqu'à disparition complète de l'argent dans les eaux de lavage étant assez lent, on préfère pour doser l'ensemble, acide urique et composés xanthiques, employer le procédé suivant :

Procédé HAYCRAFT modifié par DENIGÈS ⁽³⁾. — M. DENIGÈS a modifié le procédé HAYCRAFT-DEROIDE. Au lieu de faire agir sur l'urine une solution argentico-magnésienne non titrée, il emploie une solution demi-décinormale par rapport à l'argent. Il filtre ensuite et dose l'argent résiduel sur une portion aliquote par la méthode cyanométrique dont il est l'auteur.

Ce procédé est très rapide et donne de bons résultats, mais à la condition de ne pas s'en servir pour le dosage de l'acide urique seul.

Procédé GARNIER ⁽⁴⁾. — M. GARNIER tourne la difficulté résultant de l'action de la mixture argentico-magnésienne sur les composés xanthiques, en opérant au préalable la précipitation de l'acide urique par le sulfate d'ammoniaque en milieu alcalin.

⁽¹⁾ HAYCRAFT. Eine neue Methode für die quantitative Bestimmung der Harnsäure [*Zeitschr. f. anal. Chem.*, 1886, p. 165], et in DEROIDE. Contribution à l'étude des procédés de dosage de l'acide urique [*Thèse médecine*, Lille, 1891, p. 39].

⁽²⁾ DEROIDE [*Loc. cit.*, p. 44].

⁽³⁾ DENIGÈS [*Chimie analytique*, 1903, p. 836, Lyon, Storck].

GARNIER [*C. R. Soc. Biologie*, p. 643, 1903].

L'urate d'ammoniaque précipité est redissous dans de la soude à 2 0/0 et on achève le dosage en appliquant le procédé précédent. On dose ainsi l'acide urique seul.

Procédé DENIGÈS⁽¹⁾. — Pour doser l'acide urique seul, M. DENIGÈS le précipite à l'état d'urate cuivreux. Cette précipitation avait été déjà préconisée par MM. ARTHAUD et BUTTE⁽²⁾ en 1889.

M. DENIGÈS emploie deux solutions : l'une contenant de l'hyposulfite de soude et du sel de Seignette, l'autre du sulfate de cuivre. Il mélange les deux solutions au moment du besoin, et verse le tout dans de l'urine précédemment additionnée de carbonate de soude et filtrée. Il se précipite de l'urate cuivreux qu'on recueille et qu'on lave jusqu'à ce que les eaux de lavage ne contiennent plus de cuivre.

Le précipité est ensuite dissous dans de l'acide chlorhydrique, le cuivre est suroxydé par de l'eau bromée et dosé en milieu ammoniacal par cyanométrie.

Ce procédé très élégant est d'une pratique incommode à cause de la difficulté attachée au lavage du précipité. La filtration est très lente et, vers la fin de l'opération, l'urate cuivreux passe à travers le filtre, ce qui est une cause d'erreur.

Procédé HOPKINS⁽³⁾. — Ce procédé est une modification de celui de FOKKER⁽⁴⁾. L'auteur additionne 100 cc. d'urine de 100 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque. Au bout de deux heures l'acide urique est précipité sous forme d'urate d'ammoniaque. Le précipité est recueilli, lavé, mis en suspension dans très peu d'eau, et décomposé par l'acide chlorhydrique. L'acide urique se dépose, on le recueille, on le lave et on le pèse après dessiccation.

Procédé FOLIN⁽⁵⁾. — FOLIN modifie de la façon suivante le procédé HOPKINS. Au lieu de peser l'acide urique il l'oxyde en milieu sulfurique par une solution titrée de permanganate de potasse. Plu-

(1) DENIGÈS [*Loc. cit.*, p. 859].

(2) ARTHAUD ET BUTTE. Sur un procédé de dosage de l'acide urique [*C. R. Soc. biol.*, 9 nov. 1889].

(3) HOPKINS [*Guy's Hospital reports*, p. 299, 1892].

(4) FOKKER [*Pflüger's Arch.*, 40, p. 457, 1875].

(5) O. FOLIN. Eine Vereinfachung der Hopkins'schen Methode zur Bestimmung der Harnsäure im Harn [*Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 24, p. 224, 1898].

sieurs autres procédés employant le permanganate ont été également indiqués.

L'emploi du permanganate de potasse présente deux grands inconvénients :

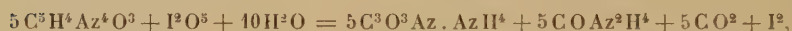
- 1^o Les solutions diluées de ce sel sont d'une grande altérabilité;
- 2^o L'oxydation de l'acide urique par le permanganate ne correspond pas à une équation définie. On emploie donc un coefficient empirique variable pour chaque auteur.

En effet, alors que FOLIN ⁽¹⁾ estime à 0^{gr},00750 la quantité d'acide urique correspondant à 1 cc. de permanganate décimormal (1/50^e de molécule par litre), RITTER ⁽²⁾ estime cette quantité à 0^{gr},00722 et DENIGÈS et BLAREZ à 0^{gr},00740.

DENIGÈS et BLAREZ ⁽³⁾ ont montré que la quantité de permanganate nécessaire pour oxyder une certaine quantité d'acide urique est fonction à la fois du degré d'acidité et de la dilution de la solution.

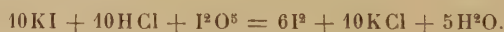
Procédé BOUILLET ⁽⁴⁾. — M. BOUILLET utilise pour le dosage de l'acide urique l'action oxydante de l'acide iodique à chaud.

D'après l'équation :



il y a mise en liberté d'iode et deux atomes de ce métalloïde correspondent à cinq molécules d'acide urique.

M. CAUSSE ⁽⁵⁾ avait indiqué un procédé de dosage basé sur la mesure de cet iode mis en liberté. Comme l'opération nécessite une distillation, M. BOUILLET préfère éliminer l'iode provenant de la réaction et doser l'excès d'acide iodique en se servant de la réaction suivante :



M. BOUILLET précipite préalablement l'acide urique à l'état d'urate de baryum.

⁽¹⁾ FOLIN [*Loc. cit.*, voir p. 53].

⁽²⁾ V. RITTER. Ervidering [*Zeit. phys. chem.*, 24, p. 410].

⁽³⁾ BLAREZ ET DENIGÈS. Sur le dosage de l'acide urique par le permanganate de potasse [*C. R. Sc.*, 104, p. 789, 1887].

⁽⁴⁾ BOUILLET. Action de l'acide iodique sur l'acide urique [*Thèse doct. univers.*, Lyon, 1900, Storck].

⁽⁵⁾ CAUSSE [*Conférences des travaux pratiques*, 1900, Lyon], in BOUILLET [*loc. cit.*, p. 29].

CHAPITRE II

CHOIX D'UNE MÉTHODE

Après l'examen d'ensemble des principaux procédés décrits ci-dessus, il m'a semblé qu'un procédé qui utiliserait l'action d'un oxydant approprié sur l'acide urique préalablement isolé serait pratique.

J'ai cherché un oxydant possédant les qualités suivantes :

1^o Agir régulièrement sur l'acide urique sans être influencé par des conditions telles que la dilution ou l'acidité;

2^o Être facilement dosable;

3^o Être d'une conservation suffisamment longue.

LIEBIG et WOEHLER⁽¹⁾ ont montré que l'acide azotique dissout l'acide urique avec effervescence en donnant un mélange d'alloxane et d'alloxantine, en même temps que de l'urée, et même de l'acide parabanique si on opère à l'ébullition.

CLAUS et EDME⁽²⁾ convertissent l'acide urique en acide carbonique et allantoïne par le permanganate de potassium.

VITALI⁽³⁾ a observé que l'acide iodique transformait l'acide urique en alloxane et en alloxantine avec mise en liberté d'iode.

GIBBS⁽⁴⁾ et SOCOLOFF⁽⁵⁾ ont étudié l'action oxydante de l'azotite de potasse en milieu sulfurique et acétique.

(1) LIEBIG ET WOEHLER. Recherches sur la nature de l'acide urique [*Ann. chim. et phys.*, **68**, p. 225, 1836].

(2) CLAUS ET EDME. Recherches sur la série urique [*Bull. Soc. Chim.*, **22**, p. 160, 1870].

(3) VITALI. Recherches sur l'acide urique et la réaction de la murexide [*Bull. Soc. Chim.*, **20**, p. 543].

(4) GIBBS [*Sillim. Am. Journ.*, (2), **48**, p. 215], et Action de l'acide azoteux sur l'acide urique et ses dérivés [*Bull. Soc. Chim.*, **43**, p. 282, 1870].

(5) SOCOLOFF. Ueber das Verhalten der Harnsäure gegen salpetrige Säure [*Zeitsch. f. Chem.*, p. 78, 1869].

En présence de l'eau, les halogènes oxydent plus ou moins profondément l'acide urique selon les conditions d'action.

Un courant de chlore transforme l'acide urique, en suspension dans l'eau, en alloxane, acide parabanique, acide oxalique et cyanate d'ammoniaque.

HARDY⁽¹⁾ a étudié l'action du brome et de l'iode.

Le brome transforme à froid l'acide urique en alloxane et urée; tandis que si la température s'élève, il se forme en outre du bromure d'ammonium, de l'acide oxalique et de l'acide parabanique.

L'iode n'agit pas à froid, il faut élever la température, et on obtient alors soit le premier terme d'oxydation, soit une oxydation plus avancée; mais il n'est pas facile de régler ainsi l'action oxydante.

J'ai cherché à utiliser pour le dosage de l'acide urique, soit le brome, soit l'iode. Pour cela je me suis adressé à de l'acide urique pur du commerce que j'ai purifié à nouveau.

Purification de l'acide urique. — 25 grammes d'acide urique ont été dissous dans 150 grammes d'acide sulfurique pur; le mélange noircit rapidement. On abandonne la solution pendant vingt-quatre heures, puis on la verse dans deux litres d'eau distillée. L'acide urique se sépare sous forme d'une poudre blanche cristalline. On le recueille et on lui fait subir plusieurs fois le même traitement jusqu'à ce que la solution sulfurique soit incolore. On le lave à l'eau distillée jusqu'à disparition complète d'acide sulfurique, puis à l'alcool et à l'éther, enfin on le dessèche à l'étuve.

On obtient ainsi un produit tout à fait pur.

⁽¹⁾ HARDY. Décomposition de l'acide urique par le brome et action de la chaleur sur l'alloxane [*Bull. Soc. Chim.*, **1**, p. 445, 1864].

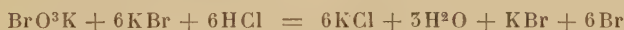
CHAPITRE III

ACTION DU BROME SUR L'ACIDE URIQUE

Le dosage de l'acide urique, à l'aide du brome, n'était possible qu'à la condition de posséder une solution titrée de ce dernier corps conservant son titre pendant un temps suffisamment long. Il ne fallait pas songer à avoir une eau bromée titrée, ni même un hypobromite de titre constant, de pareilles solutions s'altérant avec une grande rapidité.

L'oxydation de l'acide urique par le brome se faisant très bien en milieu acide, j'ai pensé à dégager le brome au sein même de la solution d'acide urique. Ce résultat est facilement obtenu en versant une solution de bromure et de bromate de potassium dans une solution acide.

La réaction est la suivante :



D'après l'équation, pour obtenir une solution décimale par rapport au brome dégagé, il me fallait faire une solution contenant par litre 1/60 de molécule de bromate de potassium, soit 2^{gr},785, et 1/10 de molécule de bromure, soit 11^{gr},90.

J'ai préféré préparer la solution suivante :

Bromate de potasse	3 grammes.
Bromure de potassium	15 —
Eau distillée.	1000 —

Pour titrer cette solution, 10 cc. sont étendus à 100 cc. par de l'eau distillée, on ajoute 5 cc. d'acide chlorhydrique et, immédiatement après, 10 cc. de solution d'iodure de potassium au 1/5. On verse ensuite une solution décimale d'hyposulfite de soude jusqu'à décoloration de la liqueur. On obtient ainsi un chiffre un peu

supérieur à 10 cc. qu'on inscrit comme étant le titre de la solution bromogène. On peut, par la méthode générale de préparation des liqueurs titrées, rendre la solution exactement décimormale, mais cela n'est pas nécessaire. La solution dont je me suis servi pour mes expériences dégageait 10^{cc},4 de brome N/10 pour 10 cc.

Expériences d'oxydation de l'acide urique. — J'ai préparé une solution d'acide urique purifié contenant 0^{gr},548 d'acide par litre, en solution alcaline.

Des prises d'essai variables sont étendues à 400 cc. environ par de l'eau distillée, chacune d'elles est additionnée de 10 cc. de la solution de bromure et bromate et de 5 cc. d'acide chlorhydrique. La solution reste incolore pendant quelques instants, puis se colore brusquement en jaune. A ce moment on y verse 10 cc. d'une solution d'iodure de potassium au dixième. Une quantité d'iode équivalente à celle de brome en excès est mise en liberté. Pour la doser, on verse une solution décimormale d'hyposulfite de sodium jusqu'à décoloration. Soit x cc. la quantité versée, 10^{cc},4 — x cc. = N cc. de solution décimormale de brome ayant oxydé l'acide urique.

Les résultats que j'ai obtenus sont consignés dans le tableau suivant.

Nombre de cc. de solution d'acide urique employés.	Poids d'acide urique contenu dans la prise d'essai.	Nombre de cc. de brome N/10 employés.
50	0,0274	5,25
100	0,0548	6,5
100	0,0548	6,5
100	0,0548	6,55
120	0,0657	7,8
120	0,0657	7,8
150	0,0822	9,8

On voit, d'après ces chiffres, que le brome agit instantanément et d'une façon régulière sur l'acide urique.

D'après l'équation de Hardy :



2 atomes de brome oxydent une molécule d'acide urique. Chaque cc. de brome décimormal doit donc correspondre à 0^{gr},0084 d'acide

urique. En utilisant ce coefficient pour l'interprétation des expériences précédentes, on obtient les résultats suivants :

Poids d'acide urique contenu dans la prise d'essai.	Nombre de cc. de brome décimormal employés.	Poids d'acide urique trouvé.
0,0274	3,25	0,0275
0,0548	6,5	0,0546
0,0548	6,5	0,0546
0,0548	6,55	0,0550
0,0657	7,8	0,0655
0,0657	7,8	0,0655
0,0822	9,8	0,0825

Au cours des dosages d'acide urique par le brome, une précaution est nécessaire : pour éviter des pertes de brome par volatilisation, il faut ajouter la solution d'iodure de potassium dès jaunissement de la liqueur. A ce moment la réaction est terminée.

L'emploi d'une solution de bromate et de bromure constitue donc un moyen rapide et exact de dosage de l'acide urique. La conservation de la solution étant parfaite, c'est à ce moyen de dosage que je me serais arrêté, si je n'avais trouvé dans l'emploi de l'iode un moyen plus rapide encore et tout aussi rigoureux.

CHAPITRE IV

ACTION DE L'IODE SUR L'ACIDE URIQUE ⁽¹⁾

Plusieurs auteurs ont employé des solutions titrées d'iode pour doser l'acide urique, mais ils opéraient directement dans l'urine. Ces procédés de dosage ont fait l'objet d'une étude critique de NEUBAUER⁽²⁾ et ont été reconnus par NEUBAUER et VOGEL⁽³⁾ « absolument inapplicables ».

Plus récemment KREIDL⁽⁴⁾ a proposé de doser l'acide urique en l'oxydant en présence de potasse par une solution titrée d'iode. Il opère de la façon suivante : la solution d'acide urique est additionnée de potasse normale, puis d'une quantité connue et en excès d'une solution normale au 1/50 d'iode. Il laisse le tout en contact pendant trois quarts d'heure; puis au bout de ce temps, il rend le milieu acide par de l'acide chlorhydrique. Tout l'iode qui n'a pas réagi est mis en liberté, on le dose à l'aide d'une solution normale au 1/50 d'hyposulfite.

Dans les conditions de l'expérience, l'iode est loin de réagir d'une façon régulière sur l'acide urique. Ainsi l'auteur a constaté que si au lieu d'attendre trois quarts d'heure il acidifiait le mélange au bout d'un temps moindre, il retrouvait une moins grande quantité d'iode libre. Aussi a-t-il conclu à une « conduite anormale de l'acide urique vis-à-vis de l'iode ».

⁽¹⁾ A. RONCHÈSE [*J. Ph. Ch.*, (6), **23**, p. 536, 1906].

⁽²⁾ NEUBAUER. Volumetrische Bestimmung der Harnsäure im Harn [*Zeitschr. an. Chem.*, **7**, p. 516].

⁽³⁾ NEUBAUER ET J. VOGEL [*De l'urine et des sédiments urinaires*, 1877, p. 278].

⁽⁴⁾ KREIDL. Eine Bestimmungsmethode für Harnsäure und Beobachtungen an Harnsäurelösungen [*Mon. f. chem.*, **14**, p. 109].

On a vu, d'après les expériences de HARDY, qu'à la température ordinaire, l'action de l'iode sur l'acide urique est presque nulle et que l'emploi de la chaleur conduit à plusieurs types de réactions.

Cela est vrai en milieu acide ou neutre, mais j'ai constaté qu'en opérant en milieu rendu alcalin par un corps sans action sur l'iode (bicarbonate de potasse ou de soude, borate de soude, bicarbonate d'ammoniaque), la réaction est instantanée et régulière.

Expériences de dosage par l'iode. — J'ai préparé deux solutions, contenant l'une 0^{gr},5982 d'acide urique et l'autre 0^{gr},817. Sur des prises d'essai différentes ramenées à des volumes variables, j'ai effectué les essais suivants : la solution alcaline d'acide urique est rendue légèrement acide par de l'acide acétique et ensuite additionnée de borate de soude jusqu'à réaction franchement alcaline. On y fait alors tomber goutte à goutte une solution décimormale d'iode jusqu'à teinte faiblement jaunâtre.

Lorsqu'on opère le dosage en l'absence d'amidon, la décoloration de l'iode est aussi rapide et aussi nette que dans le cas du dosage d'un hyposulfite. En présence d'amidon, le liquide prend une teinte plus ou moins rose qu'on ne saurait confondre à aucun moment avec la teinte bleue persistante, terme de la réaction.

J'ai obtenu de la sorte les résultats ci-dessous :

Titre de la solution d'acide urique.	Volume de la prise d'essai.	Volume total de la solution au moment du dosage.	Nombre de cc. d'iode décimormal employés.
0,5982	100 cc.	500 cc.	4,75
—	50 cc.	200 cc.	2,5 3/4
—	25 cc.	50 cc.	1 2
0,817	400 cc.	420 cc.	9,65
—	50 cc.	60 cc.	4,85
—	50 cc.	400 cc.	4,85
—	25 cc.	125 cc.	2,4 1/5

Comme cela se passe avec le brome, il était à prévoir que deux atomes d'iode correspondraient à une molécule d'acide urique, autrement dit qu'un centimètre cube de solution décimormale d'iode correspondrait à 0^{gr},0084 d'acide urique. En adoptant ce chiffre, les

expériences consignées dans le tableau précédent donnent les résultats suivants :

Poids d'acide urique contenu dans la prise d'essai.	Nombre de cc. d'iode décimal employés.	Poids d'acide urique trouvé.
0,0398	4 ^{cc} , 75	0,0399
0,0199	2 ^{cc} , 3 $\frac{3}{4}$	0,0199
0,0099	1 ^{cc} , 2	0,0100
0,0817	9 ^{cc} , 65	0,0810
0,0408	4 ^{cc} , 85	0,0407
0,0408	4 ^{cc} , 85	0,0407
0,0204	2 ^{cc} , 4 $\frac{1}{3}$	0,0204

De ces expériences, il ressort qu'en milieu rendu alcalin par addition d'un corps n'ayant aucune action sur l'iode, l'acide urique est oxydé régulièrement indépendamment de la dilution et du poids de la prise d'essai. Deux atomes d'iode correspondent à une molécule d'acide urique.

CHAPITRE V

APPLICATION A L'URINE DU PROCÉDÉ DE DOSAGE

Choix d'un précipitant.

J'avais pensé pouvoir utiliser l'insolubilité de l'urate acide de baryum, mais je n'ai jamais pu obtenir une précipitation complète de l'acide urique, quelles que fussent les conditions de précipitation. Je suis revenu alors à la précipitation à l'état d'urate d'ammoniaque utilisée dans plusieurs procédés.

Pour effectuer cette précipitation, presque tous les sels ammoniacaux ont été proposés. FOKKER, puis HOPKINS emploient le chlorhydrate; FOLIN, le sulfate et plus tard le chlorhydrate. Ce dernier auteur a obtenu également la précipitation de l'acide urique par le carbonate, l'acétate et le nitrate.

Pour déterminer les meilleures conditions, j'ai entrepris des essais comparatifs.

Dans plusieurs vases à précipiter, j'ai introduit 100 cc. d'une solution d'urate de soude à 1 gramme par litre à laquelle j'ai ajouté 10 grammes de chacun de ces sels. Au bout de trois heures, les solutions étaient filtrées et dans le filtrat l'acide urique était dosé par l'iode après addition de borate de soude. La solution additionnée de chlorhydrate d'ammoniaque était seule à ne plus contenir que des traces d'acide urique, tandis que toutes les autres en contenaient encore des quantités appréciables.

Le chlorhydrate est donc le précipitant de choix.

Le chlorhydrate d'ammoniaque précipitant l'acide urique en milieu neutre, acide ou basique, j'ai cherché quelle réaction donnerait les résultats les plus rapides.

Pour cela quatre prises d'essai de 100 cc. de solution d'acide urique furent additionnées de 10 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque.

Une des solutions fut laissée telle quelle et les trois autres additionnées respectivement de 2 cc. d'acide chlorhydrique, 5 cc. d'acide acétique et 5 cc. d'ammoniaque.

A plusieurs reprises j'ai filtré une petite quantité de ces divers liquides afin de doser dans le filtrat l'acide urique.

La solution additionnée d'ammoniaque a été la première à ne plus contenir que des traces d'acide urique. Il est donc indiqué d'effectuer la précipitation de l'acide urique par le chlorhydrate d'ammoniaque en présence d'ammoniaque. Restaient à établir les meilleures proportions d'ammoniaque et de chlorhydrate à employer. J'ai repris le procédé des précipitations simultanées en faisant varier les proportions d'ammoniaque (5 cc., 10 cc., 15 cc. et 20 cc) pour 100 cc. de solution d'urate additionnés de 10 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque. La précipitation presque complète de l'acide urique a été obtenue dans les quatre solutions, mais en premier lieu dans les solutions contenant 15 cc. et 20 cc. d'ammoniaque.

Sept prises d'essai de 100 cc. de solution d'urate de soude ont été additionnées de 15 cc. d'ammoniaque, et chacune d'elles de chlorhydrate d'ammoniaque (5 gr., 10 gr., 15 gr., 20 gr., 25 gr., 50 gr. et 55 gr., selon la prise d'essai).

J'ai fait un prélèvement dans chacune de ces solutions au bout de 10 minutes. Toutes donnaient encore assez franchement la réaction de l'acide urique. Au bout de 20 minutes les solutions dans lesquelles j'avais introduit 15, 20, 25, 50 ou 55 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque ne contenaient plus que des traces d'acide urique. Ces solutions limpides n'ont plus troublé même après quarante-huit heures. La première, qui n'avait été additionnée que de 5 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque, troubla franchement avec le temps; celle qui contenait 10 grammes de produit troubla à peine.

J'ai conclu de ces diverses expériences qu'on obtient une précipitation maxima de l'acide urique dans le minimum de temps (20 à 50 minutes) en additionnant les solutions d'ammoniaque et de chlorhydrate d'ammoniaque, dans la proportion de 15 grammes de chacun de ces deux corps pour 100 cc. de solution urique.

Cependant, dans aucun cas, la précipitation n'est complète. Il reste toujours une très faible quantité d'urate d'ammoniaque en solution; c'est cette quantité qu'il s'agissait d'évaluer.

Quantité d'acide urique restant en solution. — J'ai voulu voir si la quantité d'acide urique restant en solution était fonction de la

quantité primitive d'acide urique ou bien de la dilution. Pour cela, des prises d'essai de poids variable ont été dissoutes dans 100 cc. d'eau. Les solutions ont été additionnées de 15 cc. d'ammoniaque et de 15 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque. Après un contact de trente minutes, le précipité d'urate a été recueilli, lavé avec une solution contenant de l'ammoniaque et du chlorhydrate d'ammoniaque et dissous dans de l'eau acidulée par l'acide acétique. La solution obtenue a été alcalinisée par du borate de soude et l'acide urique dosé ensuite par l'iode.

Quelques-uns des résultats ont été consignés dans le tableau suivant :

Quantité d'acide urique contenue dans 100 cc. de solution.	Quantité trouvée après précipitation à l'état d'urate d'ammoniaque.	Différence.
0,0966	0,0953	0,0013
0,0688	0,0676	0,0012
0,0399	0,0388	0,0011
0,0289	0,0281	0,0008

On voit que la quantité d'acide urique restant en solution dans les conditions de la précipitation varie entre 1 milligr. 3 et 0 milligr. 8, soit approximativement 1 milligramme pour une prise d'essai de 100 centimètres cubes.

O. FOLIN ⁽¹⁾ était arrivé à la même conclusion dans son étude du procédé HOPKINS.

Remarque. — Lorsqu'on dose par l'iode une solution simple d'acide urique, la coloration bleue, terme de la réaction quand on opère en présence d'amidon, ou la coloration jaune dans le cas contraire, persiste pour ainsi dire indéfiniment.

J'ai constaté, au contraire, que lorsqu'on pratique le dosage après précipitation à l'état d'urate d'ammoniaque, la coloration franche qui indique la fin du dosage persiste quelques instants, puis s'affaiblit et disparaît.

Cette décoloration de l'iode ou de l'iodure d'amidon me paraît due à la présence des sels ammoniacaux, mais le fait important à

(1) O. FOLIN. Eine Vereinfachung der Hopkins'schen Methode zur Bestimmung der Harnsäure im Harn [*Zeitschr. physiol. Chem.*, 24, p. 224, 1898].

enregistrer est que le volume d'iode à verser reste le même, qu'on opère en présence ou en l'absence des sels ammoniacaux.

Les sels ammoniacaux n'agissent pas par simple présence, car si on prend le mélange suivant :

Chlorhydrate d'ammoniaque	2 grammes.
Borax (pour avoir une réaction franchement alcaline)	q. s.
Eau.	100 grammes.
Empois d'amidon.	q. s.

et si dans ce mélange on verse une goutte de solution décimale d'iode, il se produit une coloration franchement bleue du liquide, coloration qui *persiste plusieurs heures*.

Si, au contraire, on ajoute au mélange ci-dessus de l'acide urique, il faut naturellement verser une quantité d'iode *exactement équivalente* à la quantité d'acide urique ; le moindre excès d'iode détermine alors une coloration franchement bleue du liquide, coloration qui *disparaît au bout de quelques instants*. Chaque addition de faibles quantités d'iode est suivie d'une coloration et d'une décoloration au bout d'un temps plus ou moins long.

L'acide urique n'est pas seul à produire cette action : la même expérience faite avec de l'hyposulfite de soude au lieu d'acide urique conduit aux mêmes constatations.

Quelle que soit l'explication du phénomène, ce dernier n'influe nullement sur les résultats.

Technique du dosage dans l'urine. — Les divers points nécessaires à l'établissement de la technique à suivre étant éclaircis, je propose la marche suivante :

100 cc. d'urine sont additionnés de 15 cc. d'ammoniaque et le tout est laissé en contact une demi-heure.

Le précipité d'urate est recueilli sur un filtre et lavé avec la solution suivante :

Ammoniaque	150 cc.
Chlorhydrate d'ammoniaque	150 grammes.
Eau (pour 1 litre).	q. s.

Ce précipité, mis en suspension dans 500 cc. d'eau, est additionné d'acide acétique dilué jusqu'à réaction acide. On ajoute alors du borate de soude jusqu'à réaction franchement alcaline. On verse ensuite à l'aide d'une burette de Mohr une solution décimale d'iode jusqu'à ce qu'une décoloration moins rapide de l'iode indique

qu'on approche de la fin de la réaction. A ce moment, on ajoute quelques centimètres cubes d'eau amidonnée et la liqueur d'iode est versée goutte à goutte jusqu'à coloration franchement bleue de tout le liquide. Il n'y a pas à tenir compte de la décoloration qui se produit au bout de quelques instants.

Soit x le nombre de centimètres cubes de solution décimale d'iode versés :

$$(x \times 0,084) + 0^{\text{er}},01 = \text{Quantité d'acide urique pour 1 litre.}$$

On peut facilement opérer le dosage en l'absence d'amidon en prenant comme terme de la réaction la coloration jaune de la liqueur.

Expériences de contrôle du procédé. — Pour contrôler l'exactitude du procédé appliqué à l'urine et pour m'assurer par la même occasion qu'on ne dose par précipitation à l'état de sel ammoniacal que l'acide urique seul, j'ai fait sur diverses urines des dosages par la méthode décrite plus haut et par la méthode de SALKOWSKY-LUDWIG.

Voici quelques résultats :

Résultats obtenus par la méthode de Salkowsky-Ludwig.	Résultats obtenus par mon procédé après correction.	Écart par litre d'urine.
0 ^{er} ,550	0 ^{er} ,556	+ 0 ^{er} ,006
0 ^{er} ,518	0 ^{er} ,516	— 0 ^{er} ,002
0 ^{er} ,920	0 ^{er} ,915	— 0 ^{er} ,007
0 ^{er} ,750	0 ^{er} ,740	+ 0 ^{er} ,010

J'ai également dosé l'acide urique au moyen de l'iode dans des urines contenant de 0^{er},50 à 2 grammes d'albumine par litre et sur une urine rendue plus fortement albumineuse encore par addition de blanc d'œuf.

Les résultats obtenus, avant et après coagulation de l'albumine, concordaient ou variaient entre eux de 0^{er},01 par litre, soit en plus, soit en moins. Il ne paraît donc pas nécessaire, pratiquement, de se débarrasser de l'albumine avant d'opérer le dosage.

CONCLUSIONS

Des faits que je viens d'exposer, je pense pouvoir tirer les conclusions suivantes :

PREMIÈRE PARTIE

I. — L'action du formol en excès sur les sels ammoniacaux, se traduisant par la mise en liberté de tout l'acide de ces sels, permet le dosage rapide et exact de l'ammoniaque. Le dosage doit se faire en présence de phénol-phtaléine.

II. — La réaction est assez sensible pour permettre l'emploi de solutions centinormales. On peut évaluer ainsi des fractions de milligramme d'ammoniaque avec une approximation généralement inférieure à deux centièmes de milligramme.

III. — J'ai déterminé la valeur d'une correction permettant de supprimer l'erreur due à l'action des sels ammoniacaux sur la phtaléine du phénol dans les titrages acidimétriques de l'ammoniaque.

IV. — L'urée et les principaux composés azotés de l'urine n'ayant aucune influence sur le dosage, la méthode est applicable à la détermination de l'ammoniaque urinaire.

V. — J'ai décrit les techniques de dosage applicables aux cas suivants :

Dosage d'un sel ammoniacal en solution neutre ou acide.

Dosage de l'ammoniaque dans la méthode de KJELDAHL.

Dosage de l'ammoniaque des eaux, du lait, du sang et de l'urine. Il sera facile pour les autres cas d'imaginer une technique se rapprochant de l'une des précédentes.

DEUXIÈME PARTIE

VI. — Le dosage gazométrique de l'urée par l'hypobromite de soude, même après défécation au sous-acétate de plomb, ne donne qu'un résultat approximatif.

Si on établit le rapport azoturique en se servant du chiffre d'urée donné par un tel dosage, on obtient des résultats absolument erronés (par exemple, 95 0/0 au lieu de 85 0/0).

VII. — Les résultats obtenus après défécation par le sous-acétate de plomb sont toujours trop forts, et l'erreur est due presque entièrement aux sels ammoniacaux de l'urine.

VIII. — On obtient des résultats absolument comparables à ceux fournis par la méthode précise de FOLIN en pratiquant pour le dosage gazométrique de l'urée les opérations suivantes :

1^o Défécation de l'urine à l'aide d'une solution de sous-acétate de plomb;

2^o Dosage gazométrique opéré comparativement avec une solution type d'urée;

3^o Soustraction de la valeur de l'ammoniaque *exprimée en urée* des résultats obtenus.

IX. — Ainsi conduit, le dosage gazométrique de l'urée se prête très bien à l'étude des échanges azotés et aux diverses observations physiologiques. La durée des manipulations apportées par le dosage de l'ammoniaque n'étant que de quelques minutes, le dosage gazométrique conserve ses qualités de rapidité.

TROISIÈME PARTIE

X. — A la température ordinaire, l'acide urique est oxydé régulièrement par l'iode, en milieu rendu alcalin par un corps sans action sur ce métalloïde (bicarbonate de potasse, borate de soude, bicarbonate d'ammoniaque, etc.).

Dans ces conditions, une molécule d'acide urique exige pour être oxydée deux atomes d'iode, et cela indépendamment de la dilution de la liqueur et du poids de la prise d'essai.

XI. — On peut, à l'aide de cette réaction, doser rapidement et avec exactitude l'acide urique.

Dans le cas du dosage dans l'urine, il convient d'effectuer au préalable la précipitation de l'acide urique à l'état d'urate d'ammoniaque par addition d'ammoniaque et de chlorhydrate d'ammoniaque.

Par cette méthode on ne dose que l'acide urique seul et non l'ensemble des composés xantho-uriques.

Les résultats obtenus sont comparables à ceux que l'on obtient par la méthode précise de SALKOWSKY et LUDWIG.

Ils ne sont pas influencés par la présence d'albumine.

Vu : Bon à imprimer :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

L. GRIMBERT.

Vu : LE DIRECTEUR DE L'ÉCOLE.

L. GUIGNARD.

Vu et permis d'imprimer :

LE VICE-RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS,

L. LIARD.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS.	9
INTRODUCTION	11

PREMIÈRE PARTIE

DOSAGE DE L'AMMONIAQUE

CHAPITRE I. — <i>Technique générale.</i>	15
§ I. — Essais de dosage par le formol	15
§ II. — Technique du dosage	16
CHAPITRE II. — <i>Dosage de l'ammoniaque dans la méthode de Kjeldahl.</i>	20
CHAPITRE III. — <i>Dosage de l'ammoniaque des eaux.</i>	22
CHAPITRE IV. — <i>Dosage de l'ammoniaque dans le lait.</i>	26
CHAPITRE V. — <i>Dosage de l'ammoniaque dans le sang.</i>	28
CHAPITRE VI. — <i>Dosage de l'ammoniaque urinaire.</i>	50
§ I. — Divers procédés employés	50
§ II. — Application du procédé à l'urine	32

DEUXIÈME PARTIE

DOSAGE DE L'URÉE

CHAPITRE I. — <i>Procédés exacts de dosage.</i>	37
§ I. — Procédé de MOERNER et SJOEQVIST	37
§ II. — Modification de SALASKIN et ZALESKI	37
§ III. — Modification de BRAUNSTEIN	38
§ IV. — Procédé FOLIN	38
CHAPITRE II. — <i>Méthodes gazométriques.</i>	41
CHAPITRE III. — <i>Emploi de la méthode gazométrique pour le dosage exact de l'urée.</i>	45
§ I. — Action de l'hypobromite de soude sur l'urée.	45
§ II. — Influence des diverses substances azotées sur l'exactitude des résultats	45
§ III. — Expériences diverses.	47
§ IV. — Technique.	48

TROISIÈME PARTIE

DOSAGE DE L'ACIDE URIQUE

CHAPITRE I. — <i>Principaux procédés de dosage.</i>	50
§ I. — Méthodes par précipitation directe	50
§ II. — Méthodes par précipitation sous forme de composé insoluble.	51
CHAPITRE II. — <i>Choix d'une méthode</i>	55
CHAPITRE III. — <i>Action du brome sur l'acide urique</i>	57
CHAPITRE IV. — <i>Action de l'iode sur l'acide urique.</i>	60
CHAPITRE V. — <i>Application à l'urine du procédé de dosage.</i>	63
CONCLUSIONS	68

